

Irmgard Hölscher

BEITRAG ZUR ANALYTIK VON
WEICHMACHERN UNTER BESONDERER
BERÜCKSICHTIGUNG DÜNNSCICHT-
CHROMATOGRAPHISCHER METHODEN

Frankfurt am Main 1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546412_0083

BEITRAG ZUR ANALYTIK VON
WEICHMACHERN UNTER BESONDERER
BERÜCKSICHTIGUNG DÜNNSCHICHT-
CHROMATOGRAPHISCHER METHODEN

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Johann Wolfgang Goethe - Universität
zu
Frankfurt am Main

vorgelegt
von
Irmgard HÖLSCHER
Bremen

Juni 1964

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für
Lebensmittelchemie der Johann Wolfgang Goethe -
Universität zu Frankfurt am Main auf Anregung
des Institutsdirektors, Herrn Professor Dr.ing.
Dr.phil. W. Diemair ausgeführt.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor
Dr.Dr. W. Diemair danke ich sehr herzlich für
die Übertragung und die wertvolle Unterstützung
dieser Arbeit.



Gedruckt mit Genehmigung
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

1. Referent: Professor Dr.Dr.W. Diemair
 2. Referent: Professor Dr.H. Sutter
- Tag der mündlichen Prüfung: 17.7.1964
Tag der Promotion: 27.7.1964

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. <u>Einleitung</u>	
1. Kurzer Überblick über Entwicklung und Wirtschaftsgeschichte der Kunststoffe	7
2. Eigenschaften der Kunststoffe	8
3. Verwendung von Kunststoffen zur Herstellung von Bedarfsgegenständen	9
4. Kunststoffe und Lebensmittelgesetz	10
5. Analytik der Weichmacher	39
 II. <u>Experimenteller Teil</u>	
<u>Analytik von Weichmachern unter besonderer Berücksichtigung dünn-schichtchromatographischer Methoden</u>	
1. Dünn-schichtchromatographie der chemisch unveränderten Weichmacher	50
Dünn-schichtchromatographie nach <u>Peereboom, Braun</u> und <u>Diemair-Goeckel</u>	51
Dünn-schichtchromatographie mit Mehrfachentwicklung	56
Ring-Dünn-schichtchromatographie	63
Dünn-schicht-Verteilungschromatographie	67
Die Trennung von Weichmachermischungen unbekannter Zusammensetzung mit Hilfe der Dünn-schichtchromatographie	89
Die Identifizierung der Weichmacher nach dünn-schichtchromatographischer Trennung	93
Die quantitative Bestimmung von Weichmachern nach dünn-schichtchromatographischer Trennung	99
2. Dünn-schichtchromatographie der Alkohole aus Esterweichmachern als 3,5-Dinitrobenzoesäure-ester	107
Die Überführung der Alkoholkomponente eines Esterweichmachers in das entsprechende 3,5-Dinitrobenzoat	108

	Seite
Adsorptionschromatographische Trennung der 3,5-Dinitrobenzoesäureester	111
Verteilungschromatographische Trennung der 3,5-Dinitrobenzoesäureester	116
Der Nachweis von 3,5-Dinitrobenzoesäure- estern	121
Versuche zur quantitativen Bestimmung von Weichmachern nach ihrer Überführung in die entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoe- säureester	123
3. Dünnschichtchromatographie der Säuren aus Esterweichmachern	124
4. Diskussion der beschriebenen Analysen- verfahren in Hinblick auf ihre Verwendbar- keit zur Analytik von Weichmachern in der Praxis	126
5. Entwurf eines Analysenganges zur Identifi- zierung von Weichmachern	129
6. Abkürzungen	132
III. <u>Zusammenfassung</u>	133
IV. <u>Literaturverzeichnis</u>	136

I. EINLEITUNG

Kaum ein Gebiet der technischen Chemie hat in den letzten 20 Jahren eine derart stürmische Entwicklung erlebt wie das Gebiet der Kunststoffe.

Ein kurzer Überblick über Entwicklung und Wirtschaftsgeschichte der Kunststoffe (1) zeigt, daß Grundlagenforschung und technische Vorentwicklung bis weit in das 19. Jahrhundert zurückreichen.

Um die Jahrhundertwende waren Umwandlungsprodukte von Naturstoffen auf dem Markt, ab 1910 die ersten "voll"-synthetischen Kunststoffe - die härtbaren Kondensationsharze -, seit 1930 die Polymerisate.

In den folgenden Jahrzehnten wurden fortwährend neue Kunststoffe entwickelt, die durch planmäßig gesteuerte Synthesen (Polykondensation, Polyaddition, Polymerisation) aus vorsynthetisierten molekularen Bauelementen aufgebaut wurden. (2)

Den Kunststoffen wurden ständig neue Anwendungsgebiete erschlossen. Einen Überblick über die wichtigsten Anwendungsgebiete gibt Tab. 1. (3, 4)

Tab. 1

Kunststoffverarbeitung 1960
(Erzeugungswert in Millionen DM)

Kunststoffe für technische Zwecke	540
Kunststoffwaren für Textil- und Schuhindustrie	165
Kunststofferzeugnisse für Haushalt und täglichen Bedarf	215
Rohre, Schläuche, Profile	97
Plastikfolien	355
Kunstleder, Wachtuch, Schutzüberzüge	195
Boden- und sonstige Beläge	300
Verpackungsmittel	310
Schaumstofferzeugnisse	190
Auskleidung und sonstiger Oberflächenschutz	20
Sonstige Kunststoffteile und -erzeugnisse	307

Zusammen

rd. 2.900

Betrachtet man die Produktionszahlen der Kunststoffherzeugung in der Zeit vom Beginn dieses Jahrhunderts bis zum heutigen Tag, so kann man 3 Perioden erkennen: In den ersten Jahren - bis etwa 1935 - stieg die Weltproduktion an Kunststoffen nur langsam an; die Zeit von 1935 bis zu Beginn der 50er Jahre war eine Periode des Übergangs zur Massenproduktion; erst in den letzten 15 - 20 Jahren erfolgte eine enorme Produktionssteigerung, mit jährlichen Zuwachsraten der Weltproduktion von mehr als 30 - 40 %, deren Ende noch keineswegs abzusehen ist. (2)

Allein in der Bundesrepublik erreichte die Kunststoffherzeugung im Jahre 1960 mit 977 000 t fast die Millionengrenze; dazu kam noch eine Einfuhr von über 100 000 t. (3)

Eigenschaften der Kunststoffe: Diese ungeahnte Entwicklung wurde sicherlich begünstigt durch eine Reihe physikalischer und chemischer Eigenschaften, durch die sich die Kunststoffe von den altbekannten Werkstoffen wie Holz, Metall, Steine, Glas, Leder, Faserstoffe u.a. unterscheiden.

Die Besonderheiten der Kunststoffe bestehen darin, daß sie durch Wahl der Ausgangsstoffe, durch Variation von Bau, Größe und Struktur der Moleküle, sowie durch verschiedene Zusatzstoffe weitgehend dem Anwendungszweck angepaßt werden können.

Weiterhin besitzen sie eine ausgezeichnete Formbarkeit und sind daher auch zur Herstellung kompliziert konstruierter Gebilde geeignet, wodurch eine hohe Wirtschaftlichkeit in der Verarbeitung und dadurch die Möglichkeit zur Massenproduktion gewährleistet wird.

Weitere wichtige Eigenschaften sind das geringe spezifische Gewicht, die Beständigkeit gegen korrosive Einflüsse, das hohe Isoliervermögen für Wärme und Elektrizität, die gute Anfärbbarkeit, sowie die schalldämmende Wirkung.

Nachteile vieler Kunststoffe sind die geringe Festigkeit, auch unter Berücksichtigung des niedrigen spezifischen Gewichtes, die Dimensionsinstabilität, wodurch sie zum Verziehen, Schrumpfen und Krie-

chen neigen, ihre geringe Beständigkeit gegen Wärme, die schnelle Alterung, besonders durch Lichteinwirkung und Bewitterung, sowie häufig das Auftreten eines charakteristischen Geruchs. (5)

Verwendung von Kunststoffen zur Herstellung von Bedarfsgegenständen: Es nimmt nun nicht Wunder, daß die Kunststoffe, die zunächst nur für technische Zwecke eingesetzt wurden, (6) in zunehmendem Maße auch zur Herstellung von Bedarfsgegenständen im Sinne von § 2 Abs. 1, 2 und 3 des Lebensmittelgesetzes Verwendung finden.

Eine Übersicht über diese Anwendungsgebiete gibt Tab. 2. (3, 7)

Tab. 2

Bedarfsgegenstände aus Kunststoffen

Tanks

Innenauskleidung von Behältern (Tuben, Dosen, Kanister, Fässer)

Kühlschranksauskleidungen

Ausrüstung von Kühlmaschinen

Konstruktionselemente in der Lebensmittelindustrie

(Dichtungen, Auflagen, Transportbänder)

Eimer und andere Behälter

Getränkeleitungen (Rohre, Schläuche z.B. für Schankanlagen)

Ess-, Trink-, Kochgeschirr

Kunstkorken, Verschlusskapseln, Einlegescheiben für Kronenverschlüsse

Konservendosenringe und anderes Dichtungsmaterial

Abdichtungsstoffe (Klebstoffe)

Verpackungsmaterial (Folien, Beutel, Frischhalte- und Sichtpackungen, Lacküberzüge, Kaschierungen, Härten von Gewebe und Papier)

Ionenaustauscher zur Behandlung von Wasser, Milcherzeugnissen, Säften, Zuckerlösungen, Wein

Preß- und Filtertücher

Klärmittel für Getränke (z.B. Polyamidpulver)

Emulgatoren (z.B. auf Polyäthylenoxydbasis)

Dickungsmittel

Entschäumer

Oberflächenbehandlung von Käse, Obst, Wurst, Fisch

Kunstdärme

Kaumassee für Kaugummi

Tab. 2 (Fortsetzung)

Bedarfsgegenstände aus Kunststoffen

Haftmittel im Pflanzenschutz
Spielzeug
Kleidungsstücke
Beißringe
Zigarettenspitzen
Toilettengegenstände
Kosmetika (Salbengrundlagen, Lippenstifte, Haarsprühmittel, Nagellack)

Für Hersteller und Anwender der genannten Bedarfsgegenstände aus Kunststoffen ergibt sich die Notwendigkeit, die gesetzlichen Vorschriften, insbesondere das Lebensmittelgesetz zu beachten.

Kunststoffe und Lebensmittelgesetz (8): Den Schutz der Gesundheit der Bevölkerung stellt § 3 des Lebensmittelgesetzes sicher, indem er die Anwendung und den Verkauf von gesundheitsschädlichen Bedarfsgegenständen verbietet. Darüber hinaus verbietet der durch das Änderungs- und Ergänzungsgesetz vom 21. 12. 1958 in das Lebensmittelgesetz eingefügte § 4 b Nr. 5, Bedarfsgegenstände so zu verwenden, daß von ihnen fremde Stoffe auf Lebensmittel oder ihre Oberfläche übergehen, ausgenommen gesundheitlich, geruchlich und geschmacklich unbedenkliche Anteile, die technisch unvermeidbar sind.

Bei der Beurteilung von Kunststoffen im Sinne der genannten gesetzlichen Vorschriften ist zu beachten, daß in der Praxis kaum jemals reine Hochpolymere vorliegen. Diese sind im allgemeinen unlöslich und damit weitgehend als unbedenklich zu bezeichnen. (10) Vielmehr muß man bei einigen Kunststoffen mit löslichen Monomeren oder Oligomeren rechnen, die entweder aus der Herstellung stammen

(z.B. bei Polystyrol) oder sich infolge eines nachträglichen thermischen Abbaus, besonders bei zu heißer Verarbeitung oder bei Verwendung von abgebautem Altmaterial, bilden können.

Alle Kunststoffe aber enthalten zahlreiche Herstellungs- oder Verarbeitungshilfsstoffe, die in der Matrix des Kunststoffmaterials mehr oder weniger fest verankert sind. Sie besitzen unter Umständen Bindungs- und Reaktionsmöglichkeiten und können aus dem Verband durch Zersetzung oder bei der Extraktion austreten.

Einen Überblick über die Fabrikationshilfsmittel für Kunststoffe gibt Tab. 3. (3, 6)

Tab. 3 Fabrikationshilfsmittel für Kunststoffe

Katalysatoren und Aktivatoren
Polymerisationsregler
Härtungsmittel für Epoxyharze
Stabilisatoren, Antioxydantien (z.B. für Polyäthylen)
Oberflächenaktive Stoffe (Emulgatoren, Suspensionsmittel, Schutzkolloide, Verdickungsmittel, Entschäumer)
Weichmacher
Haftstoffe (z.B. für Beschichtungen auf Zellglas)
Trocknungsmittel für Lacke
Gleitmittel, Formtrennmittel
Lösungsmittel für Lacke und Klebstoffe
Treibmittel für Schaumstoffe
Füllstoffe
UV-Absorber
Optische Aufheller (Blankophore)
Farbstoffe
Konservierungsmittel
Antistatische Stoffe
Klebstoffe

Alle Kunststoffe, die Verwendung als Bedarfsgegenstände im Sinne von § 2 Abs. 1, 2 und 3 des Lebensmittelgesetzes finden sollen, müssen auf ihre Neigung zur Extrahierbarkeit untersucht werden,

unter Heranziehung empfindlicher analytischer Methoden.

Nach Veröffentlichungen der Food & Drug Administration sind analytische Methoden zum Nachweis löslicher Stoffe erst dann als einwandfrei zu betrachten, wenn die Stoffe bei Konzentrationen von 1 ppm noch zu 90 % erfaßt werden und bei 0,1 ppm noch nachweisbar sind. (10)

Weiterhin sind die Polymeren, eventuell auftretende Monomere und Oligomere, sowie die Herstellungs- und Verarbeitungshilfsmittel in Tierversuchen auf ihre Toxizität zu untersuchen.

Falls sich bei diesen Untersuchungen ergibt, daß ein Kunststoffbestandteil sowohl löslich als auch toxisch ist, stellt er eine akute Gefahr für die Gesundheit dar; wie z.B. der hochgiftige und leicht fettlösliche Weichmacher o-Trikresylphosphat.

Alle Stoffe, die unlöslich gebunden vorliegen, wie die chemisch vollständig umgewandelten, an sich giftigen Diisocyanate und alle Stoffe, die vom Kunststoff unlöslich eingehüllt sind, wie blei-, cadmium- oder selenhaltige Pigmente können dagegen grundsätzlich als unbedenklich bezeichnet werden. (3)

Als dritte Möglichkeit ergibt sich, daß ein Stoff sicher nicht toxisch, jedoch nachweisbar löslich ist. (z.B. Fettsäureester als Weichmacher) In diesem Fall hat der Gesetzgeber im Verbraucherinteresse immer noch das Prinzip der Reinerhaltung des Lebensmittels zu beachten. (11)

Erschwert wird eine Einteilung aller Kunststoffbestandteile in die obengenannten drei Rubriken dadurch, daß es fließende Übergänge zwischen Stoffen gibt, die als ausgesprochen "toxisch" oder als "nichttoxisch" zu bezeichnen sind.

Außerdem müssen reale Definitionen der Bezeichnung "Unlöslichkeit" geschaffen werden, da eine absolute Unlöslichkeit eine unerfüllbare Forderung darstellt. (11)

In den folgenden Kapiteln soll eine Übersicht gegeben werden über

solche Veröffentlichungen, die zur Beurteilung weichmacherhaltiger Kunststoffe beitragen, die sich also mit der Frage der Toxizität, der Extrahierbarkeit und mit dem Nachweis von Weichmachern beschäftigen. Weiterhin soll über die gesetzlichen Regelungen zur Frage der Verwendung weichmacherhaltiger Kunststoffe im In- und Ausland berichtet werden.

Die physiologische Bewertung von Weichmachern:

Die Kenntnisse über die biologische Verträglichkeit und die möglichen gesundheitsschädlichen Wirkungen der Weichmacher stecken noch in den Anfängen.

Übersichten über Veröffentlichungen auf diesem Gebiet geben Bär (7, 9), Robinson-Görnhardt (10), Hill (12), Sommer (17) und Thinius (13, 14)

Zum Nachweis und zur Abgrenzung möglicher Giftwirkungen von Weichmachern ist die biologische Charakterisierung der einzelnen Weichmacher durch den Tierversuch erforderlich.

Hierzu sind - im Zusammenhang mit dem Nachweis der Unbedenklichkeit von fremden Stoffen in Lebensmitteln - eingehende Prüfungsmethoden vorgeschlagen worden. (15)

Zu einer derartigen toxikologischen Prüfung gehören folgende Untersuchungen, die möglichst an verschiedenen Tierspecies vorgenommen werden sollten, da - wie z.B. beim Trikresylphosphat gezeigt werden konnte - verschiedene Tierarten verschiedene Vergiftungsbilder zeigen können (16):

1. Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis (DL 50). Vorschläge von Hodge und Sterner (17) gehen dahin, die durch DL 50 ermittelte Toxizität wie folgt zu bewerten:

Tab. 4

Bewertung der Toxizität einer Substanz an Hand der DL 50

Toxizität	Dosierungsspanne von DL 50 mittels angew. korrig.Sicherheitsfaktor	Wahrscheinliche tödliche Dosis für Menschen (70 kg)
außerordentlich	bis 1 mg/kg	geringste Mengen
sehr stark	1 - 50 mg/kg	ca. 1 Teelöffel
stark	5 - 500 mg/kg	ca. 30 g
mäßig	0,5 - 5 mg/kg	ca. 1/2 Liter
wenig	5 - 15 g/kg	ca. 1 Liter
außerordentlich niedrig	15 g/kg und mehr	--

2. Ermittlung des Vergiftungsbildes bei akuter, subakuter und chronischer Zufuhr, unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses auf Stoffwechsel, Fortpflanzungsfähigkeit und auf pathologische Veränderungen in den Geweben.

3. Untersuchung ob eine Reizwirkung oder sensibilisierende Wirkung (Allergie) auf die Haut vorliegt.

4. Prüfung auf eventuelle cancerogene Wirkung.

Derart langwierige Untersuchungen liegen bis heute nur für eine verhältnismäßig geringe Zahl an Weichmachern vor.

Am besten untersucht dürften wohl die Phosphorsäureester sein, allen voran das Trikresylphosphat, von dem zahlreiche Vergiftungsfälle bekannt geworden sind.

So erkrankten zu Beginn des Jahres 1930 in den USA tausende von Personen an Lähmungen, die durch den Genuß eines Ingwergetränkes, welches bis zu 2 % Trikresylphosphat enthielt, hervorgerufen worden waren. (16)

In Europa traten Vergiftungsfälle auf durch Verfälschung oder Verwechslung mit Salatölen, Speisefetten oder mit dem sog. Torpedoöl.

Seit Ende des Krieges waren häufig Kunststoffe, vor allem PVC, welche Trikresylphosphat als Weichmacher enthielten, Ursache von Vergiftungen. (18, 19)

Technisches Trikresylphosphat enthält außer den 3 Triestern (Tri-o-, Tri-m-, Tri-p-kresylphosphat) noch 7 weitere Mischester. Giftig sind allein die o-Kresylverbindungen, und zwar fällt die Toxizität in der Reihenfolge Mono-, Di-, Tri-o-kresylester im Verhältnis 10:5:1. (16) Die m- und p-Verbindungen sind nicht resorbierbar und daher ungiftig. (6)

Die tödliche Dosis von o-Trikresylphosphat bestimmte Gross (6) an verschiedenen Tierarten nach verschiedener Applikation. Sie beträgt beim Kaninchen nach oraler Zufuhr 100 mg/kg, wobei innerhalb von einigen Tagen der Tod eintritt.

Eine Vergiftung mit Trikresylphosphat führt beim Menschen innerhalb von 24 h zu Verdauungsstörungen, die nach einigen Tagen wieder abklingen. Es folgen - nach einer Latenzzeit von 3 Wochen bis zu 2 Monaten - Veränderungen des Nervensystems im Sinne einer Polyneuritis, die sich über Monate erstrecken und meistens ausheilen. An den Muskeln treten Degenerationserscheinungen auf, besonders im Spätstadium. Auch ausgesprochene psychische Störungen, wie Größenwahn und Depressionen wurden beobachtet. (21, 22, 23, 24)

Schwere toxische Schädigungen treten nicht nur nach peroraler Aufnahme des Trikresylphosphates auf, sondern auch nach perkutaner Einwirkung. (6, 18, 25, 26)

Triphenylphosphat: Eine ähnliche Wirkung wie das Trikresylphosphat soll das Triphenylphosphat haben. Eine vergleichende toxikologische Untersuchung beider Weichmacher stammt von Hierholzer und Mitarbeitern. (27)

Die Toxizität beider Weichmacher wurde an Ratten und Katzen nach akuter und chronischer Applikation untersucht. Die Symptome beider Vergiftungen stimmen überein und die toxischen Dosen liegen in der gleichen Größenordnung. Auch die auftretenden pathologisch-histo-

logischen Veränderungen sind identisch.

Nach Ansicht der Autoren dürfte die Dosis letalis des Triphenylphosphats für den Menschen in der gleichen Größenordnung zu erwarten sein wie die von Trikresylphosphat.

Nach Lefeaux (28) bewirkt Triphenylphosphat eine vorübergehende lokale Reizung. Die wiederholte Einnahme von Dosen zwischen 0,1 - 1,0 g/kg führte zu Nierenschädigungen, die allerdings schnell abklangen. Intraperitoneale Injektionen von 0,1 - 0,2 g/kg verursachten keinen Effekt. Die mittlere tödliche Dosis (LD 50) nach intraperitonealer Injektion bei Ratten beträgt 250 mg/kg. (29)

2-Äthylhexyldiphenylphosphat: Während also das Triphenylphosphat eine hochgradig toxische Substanz ist, ist das chemisch nah verwandte 2-Äthylhexyldiphenylphosphat als physiologisch harmlos anzusehen.

Die akute Toxizität und die Wirkungen langdauernder Fütterungsversuche an Ratten und Hunden untersuchten Trean et al. (30)

Die minimale letale Dosis bei oraler Zuführung war bei Ratten und Kaninchen größer als 24 g/kg Tiergewicht. Ratten vertrugen 2 Jahre lang einen Zusatz von 0,125 % und 0,0625 % des Weichmachers zum Futter, ohne daß irgendeine Wirkung zu erkennen war. Ein Zusatz von 1 % führte zu Wachstumsverzögerungen gegenüber den Kontrolltieren. Bei Hunden war eine 24-monatige Verfütterung des Weichmachers von 0,5 ml/kg/Tag ohne sichtbare Wirkung; die doppelte Menge führte zu Wachstumsverzögerungen.

In keinem der Fälle wurde eine erhöhte Sterblichkeitsrate oder Veränderungen in den Geweben festgestellt. 2-Äthylhexyldiphenylphosphat wird nach Untersuchungen von Trean (31) von Kaninchen und vom Menschen zu 94 - 96 % wieder ausgeschieden, und zwar die Hauptmenge in den Faeces (70 - 80 %), ein Zeichen dafür, daß nur ein Teil des Weichmachers im Verdauungstrakt resorbiert wird.

Die Hautverträglichkeit von 2-Äthylhexyldiphenylphosphat ist gut.

Es traten keinerlei Reizwirkungen oder sensibilisierende Wirkungen ein, wenn der Weichmacher auf die gesunde und auf die verletzte Haut eines Kaninchens aufgebracht wurde. (31) Beim Menschen wurde - ebenfalls ohne Reizwirkung - die Hautverträglichkeit weichmacherhaltiger PVC-Folien getestet. (32)

Lefeaux (28) kommt zu dem Ergebnis, daß 2-Äthylhexyldiphenylphosphat der einzige absolut unbedenkliche Phosphorsäureester ist.

Im Gegensatz zu den genannten Autoren stellten Malette und von Haam bei ihren Untersuchungen eine schwache Toxizität des 2-Äthylhexyldiphenylphosphats fest. Sie schreiben diesem Weichmacher eine mäßige reizende Wirkung auf die Haut zu. (33)

Tributylphosphat: Trotz merklicher Flüchtigkeit sind nach Thinus (14) keine industriellen Vergiftungen bekannt geworden. Die tödliche Konzentration in der Atemluft für Katzen liegt nach Untersuchungen von Eller (20) bei 23 mg/Liter. Die mittlere tödliche Dosis (DL 50) nach oraler Gabe beträgt bei Ratten 3 g/kg. (34)

Tributoxyäthylphosphat: Die tödliche Dosis bei langsamer Intoxikation beträgt beim Meerschweinchen nach oraler Applikation $2,4 \text{ cm}^3/\text{kg}$. (14)

Kresyldiphenylphosphat: Die tödliche Dosis nach intraperitonealer Injektion beträgt etwa 1 g/kg. Die vergifteten Tiere starben mit Symptomen der Paralyse. Nach dem Sezieren zeigte sich eine allgemeine Kapillarparalyse, mit schweren Ödemen und zahlreichen kleinen Blutgerinnseln im Gehirn. Im Hauttest wurde eine leichte Reizwirkung festgestellt. (33)

Phthalsäureestern wird allgemein eine sehr geringe physiologische Wirkung zuerkannt. Die Toxizität soll mindestens um die Hälfte niedriger sein als die der entsprechenden Phosphorsäureester. (28)

Dimethylphthalat: Die mittlere tödliche Dosis (DL 50) nach oraler Verfütterung an Ratten ermittelte Draize (35) mit $6,9 \text{ cm}^3/\text{kg}$ Körpergewicht.

Die tödliche Konzentration in der Atemluft für Katzen liegt nach Eller (20) bei 9,3 mg/Liter.

Diäthylphthalat: ist nach Lefeaux (28) schwach toxisch. Die DL 50 nach intraperitonealer Injektion bei Mäusen beträgt 2750 mg/kg. (36)

Dibutylphthalat: Die mittlere tödliche Dosis (DL 50) nach oraler Applikation beträgt bei Ratten etwa 12,8 ml/kg Körpergewicht. (37)

Bei subakuten und chronischen Fütterungsversuchen an Ratten erfolgte keine Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes. Es traten keinerlei Zeichen einer toxischen Schädigung des Stoffwechsels und des endokrinen Systems auf. (37)

Ein Zusatz von 0,25 % zum Futter bewirkte - auch nach langer Versuchsdauer - keinerlei signifikanten Gewichtsverlust. (38) Allerdings beobachteten Bornmann und Mitarbeiter (37) an etwa 10 % der Versuchstiere bei chronischer Verfütterung des Weichmachers ein Auftreten von Sarkomen. Ob der Weichmacher auf die Entstehung der Sarkome von entscheidendem Einfluß war, konnte nicht geklärt werden.

Die Verfasser halten weitere Versuche für nötig, um die Unbedenklichkeit von Dibutylphthalat zur Lebensmittelverpackung zu prüfen.

Auch Homrowski und Nikonorow weisen auf eine eventuelle cancerogene Wirkung des Dibutylphthalats hin. (39)

Dicyclohexylphthalat ruft keine rasch ablaufende tödliche Vergiftung hervor. Bei subakuten und chronischen Fütterungsversuchen an Ratten konnte keinerlei Schädigung festgestellt werden. Die mittlere tödliche Dosis (DL 50) beträgt 30 ml/kg Körpergewicht. (37)

Di-2-äthylhexylphthalat: Einer der gebräuchlichsten Weichmacher ist das Di-2-äthylhexylphthalat.

Dementsprechend existieren auch verschiedene Arbeiten, die sich

mit der Toxizität dieses Weichmachers befassen. Hodge (40) charakterisierte die akute Toxizität von Di-2-äthylhexylphthalat an Ratten und Mäusen als sehr niedrig.

Shaffer und Mitarbeiter (41) bestätigten diese Beobachtungen bei anderen Tierarten und in anderen Versuchsanordnungen. Aus Stoffwechseluntersuchungen schlossen diese Autoren, daß die schädigende Wirkung von Di-2-äthylhexylphthalat im Körper mehr auf den Alkylrest zurückzuführen ist als auf die Phthalsäurekomponente.

Chronische Fütterungsversuche von Carpenter et al. (42) ergaben, daß Ratten, Meerschweinchen und Hunde 0,06 g/kg/Tag ohne erkennbare Wirkung vertrugen. Höhere Dosen führten zu Vergrößerungen der Leber und der Niere.

Zu dem gleichen Ergebnis kamen Harris et al. (43), die 2 Jahre an Ratten eine Nahrung verfütterten, die 0,1 % des Weichmachers enthielt.

Die DL 50 bei oraler Verfütterung an Ratten beträgt 30,6 g/kg.
(41)

Malette und von Haam (33) bezeichnen Di-2-äthylhexylphthalat als schwach toxisch und fanden eine leichte Reiz- und sensibilisierende Wirkung auf die Haut von Menschen und Tieren.

Halpern und Weiss (32) untersuchten Folien, die mit Di-2-äthylhexylphthalat weichgemacht waren, mit Hilfe des sogenannten "Läppchentestes" auf Hautverträglichkeit und stellten keinerlei Reizwirkung fest.

Homrowski und Nikonorow (39) lehnen die Verwendung von Di-2-äthylhexylphthalat zur Lebensmittelverpackung ab, trotz seiner geringen Toxizität, wegen der möglichen Veränderungen in der Leber und wegen seiner eventuellen cancerogenen Wirkung.

Citronensäureester: Zu den Weichmachern, die als unbedenklich angesehen werden, gehören verschiedene Ester der Citronensäure.

Finkelstein und Gold (44) untersuchten die Toxizität von Tributylcitrat, Acetyltributylcitrat, Triäthylcitrat und Acetyltriäthylcitrat an Ratten und Katzen.

Die beiden Tributylester zeigten bei peroraler Aufnahme weder in einzelnen hohen Dosen noch nach zweimonatiger Verfütterung irgendeine toxische Wirkung. Das ist nach Ansicht der Autoren auf ihre Unlöslichkeit zurückzuführen. Im Vergleich dazu sind die beiden Äthylester weit toxischer. Die orale DL 50 beträgt bei Ratten 7,0 cm³/kg. Die vergiftende Wirkung tritt häufig schon nach wenigen Minuten, spätestens nach 1 - 2 Tagen ein, klingt schnell wieder ab, und entspricht in ihrem Erscheinungsbild der vergiftenden Wirkung des Citrations im Kreislauf (Hypocalcaemie).

Die chronische Verfütterung aller 4 Citronensäureester zeigte keinerlei schädigenden Einfluß auf Wachstum, Blutbild, Blutzucker-, Hämoglobin- und Stickstoffgehalt des Blutes. Makroskopische oder histologische Veränderungen in den inneren Organen waren nicht feststellbar.

Butylstearat, Dibutylsebacat, Methoxyäthyloleat:

Smith (38) untersuchte außer Dibutylphthalat (s.S. 18) Butylstearat, Dibutylsebacat und Methoxyäthyloleat auf toxische Wirkungen.

Er fand folgende akute letale Dosen (DL 100):

Butylstearat	mehr als 32 g/kg
Dibutylsebacat	16 - 32 g/kg
Methoxyäthyloleat	16 g/kg

Eine chronische Verfütterung von Nahrung mit Zusatz eines der Weichmacher führte zu keinem signifikanten Gewichtsverlust bei Ratten, wenn die Konzentrationen an Butylstearat und Dibutylsebacat 6,25 %, an Methoxyäthyloleat 0,01 - 0,05 % nicht überschritten.

Butylstearat und Dibutylsebacat riefen keinerlei pathologische Gewebsveränderungen hervor, Methoxyäthyloleat führte in 3 von 7 Fällen zur Bildung von Nierensteinen.

Der Autor kommt zu der Ansicht, daß die Verarbeitung von Butylstearat und Dibutylsebacat in Kunststoffen zur Lebensmittelverpackung auf Grund ihrer geringen Toxizität kaum ein Wagnis darstellt.

Auch nach den Arbeiten von Malette und von Haam (33) ist Dibutylsebacat als nicht toxisch anzusehen. Darüber hinaus stellten sie fest, daß dieser Weichmacher keinerlei Reizwirkung oder sensibilisierende Wirkung auf die menschliche und auf die tierische Haut ausübt.

Benzyloctyladipat, Mesamoll, Ultramoll I: Nach eingehenden Untersuchungen von Bornmann et al. (37) ist Benzyloctyladipat akut relativ toxisch. (Mittlere tödliche Dosis - DL 50 - bei Ratten nach oraler Zufuhr innerhalb von 7 Tagen: 20 g/kg) Mesamoll und Ultramoll I dagegen sind akut relativ wenig toxisch. (DL 50, unter den gleichen Bedingungen ermittelt, beträgt bei Mesamoll 50 - 60 g/kg, bei Ultramoll I 60 - 70 g/kg)

Die Ergebnisse der subakuten und chronischen Fütterungsversuche sprechen gegen einen toxischen Einfluß der Weichmacher auf den Organismus: Körpergewicht, Allgemeinverhalten, Blutbilder und im allgemeinen auch die pathologisch-anatomischen Befunde waren völlig normal.

Eine besonders günstige Beurteilung erteilten die Autoren Mesamoll (s.auch 52) und Ultramoll I.

Von der Horst (53) stellte fest, daß Mesamoll im Kontakt mit der Haut harmlos ist.

Glycerintriacetat wird im allgemeinen als wenig toxisch angesehen (z.B. 17), obwohl die tödliche Dosis im Vergleich zu anderen Weichmachern relativ niedrig ist: Von Oettingen (45) fand nach oraler Verabreichung bei Ratten folgende Werte: DL 50 = 3,0 g/kg und DL 100 = 4 - 10 cm³/kg. Die Symptome der Vergiftung sind bemerkenswerte Ruhigstellung des Zentralnervensystems, Schwäche, Entkräftung, Atemnot und schließlich Tod.

In vitro zeigte der Weichmacher hämolytische Wirkungen.

Zur Klärung der Frage, ob ein Weichmacher als toxisch anzusehen ist, kann man außer den genannten Veröffentlichungen das vom US-Department of Agriculture, Meat Inspection herausgegebene Verzeichnis heranziehen. (46, 47, 48) Dieses führt solche Kunststoffbestandteile auf, die von der Food and Drug Administration nach eingehenden Tierversuchen als geeignet zur Verwendung in der Lebensmittelverpackung angesehen werden.

Eine weitere Liste nicht toxischer Weichmacher findet sich bei Malette und von Haam (33). Diese Autoren untersuchten 25 Weichmacher auf ihre Eignung zur Herstellung von Gebrauchsgegenständen. Sie legten daher besonderen Wert auf den negativen Ausfall von Hauttesten, allerdings erst nach einer eingehenden Untersuchung der toxischen Wirkung der Stoffe im Fütterungsversuch oder nach Einspritzungen. 20 der 25 untersuchten Weichmacher erwiesen sich als nicht toxisch, nur 5 dagegen konnten im Hauttest als absolut unschädlich bezeichnet werden.

Bei der gesundheitlichen Beurteilung von Weichmachern muß man weiterhin eventuelle Spaltprodukte berücksichtigen, die sich im Stoffwechsel durch den Einfluß verschiedener Enzymsysteme bilden können.

Einen Hinweis hierauf gibt Smith (38), der in vitro feststellte, daß Dibutylphthalat, Butylstearat, Dibutylsebacat und Methoxyäthyl-oleat ebenso schnell durch Pankreaslipase verseift werden wie Triolein. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß Esterweichmacher auf die gleiche Weise in den Stoffwechsel eintreten wie normales Nahrungsfett.

Nach Arbeiten von Oettingen (45) besitzen Ester und ihre Säuren, nach Arbeiten von Hodge (40) Ester und ihre Alkohole eine unterschiedliche physiologische Wirksamkeit.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse der referierten Arbeiten über die toxikologische Beurteilung von Weichmachern gibt Tab. 5.

In dieser Tabelle werden zunächst letale Dosen aufgeführt, soweit

sie in der Literatur erwähnt sind. Wenn möglich, werden die mittleren tödlichen Dosen (DL 50) nach oraler Verfüterung an Ratten angegeben.

Spalte I enthält die maximalen Zusätze des betreffenden Weichmachers zum Futter, die über längere Zeit ohne sichtbare Wirkung von Versuchstieren (meistens Ratten) vertragen wurden.

Spalte II gibt Hinweise auf die Hautverträglichkeit von Weichmachern: unter II a ist eine eventuelle hautreizende, unter II b eine eventuelle hautsensibilisierende Wirkung aufgeführt.

Schließlich enthält die Tabelle noch eine kurzgefaßte Beurteilung der Weichmacher.

Tab. 5

Weichmacher, deren Toxizität im Tierversuch getestet wurde

Weichmacher	Letale Dosis		I.	II. a b	Beurteilung
DL Appl. Tier Autor					
2,2'(2-Äthylhexamido)-diäthyl-di-(2-äthylhexoat)				+ + (33)	Im Tierversuch schwach toxisch (33)
Glycerintriacetat	50	3,0 g/kg or. Ratten (45)			1. Nicht toxisch in Langzeit-tiervers. (46) F&DA 2. Absolut nicht toxisch (28)
Benzyloctyladipat	50	20 g/kg or. Ratten (37)	1,0cm ³ kg(50%) (37)		Nicht toxisch in chron.Fütterungsversuchen (37)
Diäthylhexyladipat			0,6g/kg (49)	- - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Diisobutyladipat					Nicht toxisch in Langzeit-tiervers.(46)
Diamylacelat				+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)

Tab. 5 (Fortsetzung)

Weichmacher, deren Toxizität im Tierversuch getestet wurde

Weichmacher	Letale Dosis DL Appl. Tier Autor	I.	II. a b	Beurteilung
Diäthyl- hexylacelat			+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Dibutoxy- äthylacelat			+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Dicyclo- hexylacelat			+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Methyliso- butylcarbi- nolacelat			+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Glycerin- tributyrat				Absolut nicht toxisch (28)
Diäthylen- glykoldi- caprat			+ + (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Triäthylen- glykoldi- caprylat		0,06g/kg (49)	+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Dibutoxy- äthyldigly- kolcarbonat			- - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Acetyltri- äthylcitrat	50 7,0 cm ³ /kg or. Ratten (44)	1-4 g/kg (44)		1. Nicht toxisch in Langzeit- tierversuchen F&DA (46)
Triäthyl- citrat	50 7,0 cm ³ /kg or. Ratten (44)	1-4 g/kg (44)		2. Akute Toxizi- tät relativ hoch, chroni- sche Toxizi- tät nicht vorhanden(44)
Acetyltri- butylci- trat		2000 ppm (49)		1. Nicht toxisch in Langzeit- tierversuchen F&DA (46)
Tributyl- citrat		5-10 % (44)		2. Keine akute und keine chronische Toxizität(44)

Tab. 5 (Fortsetzung)

Weichmacher, deren Toxizität im Tierversuch getestet wurde

Weichmacher	Letale Dosis DL Appl. Tier Autor	I.	II. a b	Beurteilung
Monoisopropylcitrat				Nicht toxisch in Langzeittierversuchen F&DA (46)
Mono-, Di-, Tristearyl-citrat				Nicht toxisch in Langzeittierversuchen F&DA (46)
Äthyl-phthalyl-äthylglykolat		0,5 % (50)		Nicht toxisch in Langzeittierversuchen F&DA (46)
Butyl-phthalyl-butylglykolat		2000 ppm (49)		1. Nicht toxisch in Langzeittierversuchen F&DA (46) 2. Praktisch nicht toxisch (28)
Glycerin-monooleat				Nicht toxisch in Langzeittierversuchen F&DA (46)
Methoxy-äthyloleat	16 g/kg DL 100 or.Ratten (38)	0,01 - 0,05 % (38)		Nicht geeignet zur Verwendung in der Lebensmittelverpackung (38, 46)
Diäthylen-glykoldi-pelargonat			+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Äthylhexyl-diphenyl-phosphat	> 24 g/kg DL 100 or.Ratten (30)	0,125% (30)	+ + (33) - - (31,32)	1. Nicht toxisch in Langzeittierversuchen F&DA (46) 2. Im Tierversuch schwach toxisch (33) 3. Einziger absolut unbedenklicher Phosphatesterweichmacher (28) 4. Akute und chronische Toxizität sehr gering (30, 31)

Tab. 5 (Fortsetzung)

Weichmacher, deren Toxizität im Tierversuch getestet wurde

Weichmacher	Letale Dosis DL Appl. Tier Autor	I.	II. a b	Beurteilung
Kresyl- diphenyl- phosphat	etwa 1 g/kg DL 100, ip. Ratten (33)		+ - (33)	Im Tierversuch schwach toxisch (33, 46)
Tributoxy- äthyl- phosphat	1. 2,4 cm ³ /kg 100 or. Meerschwein- chen (14) 2. 3 g/kg 100 or. Ratten (44)			Akut relativ to- xisch, bei chronischer Ver- fütterung ₃ (bis zu 1,4 cm ³ /kg) keine toxische Wirkung. (14)
Tributyl- phosphat	3 g/kg 50 or. Ratten (34)		+ (28)	Schwach toxisch (28, 14)
Trikresyl- phosphat	0,1 g/kg (o-TKP) 100 or. Kaninchen (6)			Sehr toxisch. Toxizität abhän- gig vom Gehalt an o-Verbindun- gen. (21, 22, 23, 24)
Triphenyl- phosphat	0,25 g/kg 50 ip. Ratten (29)		+ (28)	1. Nicht geeig- net zur Ver- wendung in der Lebens- mittelverp. (28) 2. Ebenso to- xisch wie Trikresyl- phosphat (27)
Butylbenzyl- phthalat			+ - (33)	Im Tierversuch schwach toxisch (33)
Butylcyclo- hexyl- phthalat			+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Däthyl- phthalat	2,75 g/kg 50 ip. Mäuse (36)			1. Nicht toxisch in Langzeit- tiervers. F&DA (46) 2. Schwach to- xisch (28)

Tab. 5 (Fortsetzung)

Weichmacher, deren Toxizität im Tierversuch getestet wurde

Weichmacher	Letale Dosis DL Appl. Tier Autor	I.	II.	Beurteilung
			a b	
Diäthyl- hexyl- phthalat	30,6 g/kg 50 or. Ratten (41)	0,06- 0,2g/kg (42)	+ + (33) - (32)	1. Zur Verpackung von Lebensmitteln mit hohem Wassergehalt geeignet. F&DA (46) 2. Im Tierversuch schwach toxisch (33) 3. Akute (28,40) und chronische (42,43) Toxizität sehr gering. 4. Nicht geeignet zur Verwendung in der Lebensmittelverp. (39)
Dibutoxy- äthyl- phthalat			- - (33)	1. Im Tierversuch nicht toxisch (33) 2. Leichte Toxizität (28)
Dibutyl- phthalat	1. 4,14 g/kg 50 ip. Mäuse (36) 2. 12,8 ml/kg 50 or. Ratten (37)	0,25% (38)		1. In subakuten und chronischen Fütterungsversuchen keine Toxizität (37) 2. Möglicherweise cancerogene Wirkung (37, 39)
Dicapryl- phthalat		2,5g/kg (49)	+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Dicyclo- hexyl- phthalat	30 ml/kg 50 or. Ratten (37)	2,0 cm ³ / kg(25%) (37)		Akute und chronische Toxizität sehr gering (37)
Diisooctyl- phthalat				Zur Verpackung von Lebensmitteln mit hohem Wassergehalt geeignet. F&DA (46)

Tab. 5 (Fortsetzung)

Weichmacher, deren Toxizität im Tierversuch getestet wurde

Weichmacher	Letale Dosis DL Appl. Tier Autor	I.	II. a b	Beurteilung
Dimethyl- phthalat	6,9 cm ³ /kg 50 or. Ratten (35)			Physiologisch nicht unbedenk- lich (28)
Dinonyl- phthalat			- (51)	Im Tierversuch nicht toxisch (51)
Glycerin- tripropio- nat				Absolut nicht toxisch (28)
Methylacetyl- ricinoleat			+ + (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
p-tert.Bu- tylphenyl- salicylat				Nicht toxisch in Langzeittier- versuchen F&DA (46)
Diäthyl- hexylsebacat			- - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33, 46)
Dibutylse- bacat	16 - 32 g/kg 100 or. Ratten (38)	6,25 % (38)	- - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33, 38, 46)
Butylstearat	> 32 g/kg 100 or. Ratten (38)	6,25 % (38)		Nicht toxisch in Langzeittier- versuchen F&DA (38, 46)
Alkylsul- fonsäure- ester des Phenols/Kre- sols	50 - 60 g/kg 50 or. Ratten (37)	1,0cm ³ / kg(50%) (37)	- - (53)	Im Tierversuch nicht toxisch (37, 52)
3-(2-Xeno- xyl)- 1,2-epoxy- propan				Nicht toxisch in Langzeittier- versuchen F&DA (46)
Epoxydier- tes Soja- bohnenöl		2,5 % (6)		Nicht toxisch in Langzeittier- versuchen F&DA (46)
Octadecen- nitril			+ - (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)

Tab. 5 (Fortsetzung)

Weichmacher, deren Toxizität im Tierversuch getestet wurde

Weichmacher	Letale Dosis DL Appl. Tier Autor	I.	II. a b	Beurteilung
Paraplex G25 Reoplex 100 = 1,2-Pro- pylengly- kol-Seba- cinsäure- Polyester			+ + (33)	1. Im Tierversuch nicht toxisch (33) 2. Geeignet zur Weichmachung von Lebens- mittelver- packungsma- terial (49)
Paraplex G40 = Adipin- säure- Polyester			+ + (33)	Im Tierversuch nicht toxisch (33)
Ultramoll I = Adipin- säure- Polyester	60 - 70 g/kg 50 cr. Ratten (37)	1 cm ³ / kg Tier (50 %)		Absolut nicht toxisch (37)

Die Extrahierbarkeit von Weichmachern aus Kunststoffen:

So wichtig grundsätzlich die Kenntnis der Toxizität der einzelnen, bei der Herstellung von Kunststoffen verwendeten Substanzen ist, so entscheidend ist aber für die gesundheitliche Beurteilung eines Kunststoffes die Frage, ob vom Kunststoff irgendwelche Bestandteile an die mit ihm in Berührung kommenden Lebensmittel abgegeben werden, oder ob von solchen Bedarfsgegenständen aus Kunststoff, die in Kontakt mit der Körperoberfläche kommen, wie Kleidungsstücke, Spielzeug, Toilettenartikel, lösliche Anteile perkutan resorbiert werden können.

Der qualitativen und gegebenenfalls quantitativen Feststellung der Löslichkeit kommt somit erhebliche Bedeutung zu.

Methoden zur Ausführung von Extraktionstesten bei Verpackungsmaterial (Filmen), Konservendosenlacken u.a. wurden von der Food and Drug Administration (47d, 48), vom Toxic Subcommittee British Plastics Federation (Brit. Med. J. 1958, I 388), von der Continental Can Company Chicago (54), und vom Institut Français de l'Emballage

et du Conditionnement (Merkblatt März/April 59/12) angegeben.

Der Analyseausschuß der Kunststoff-Kommission des Bundesgesundheitsamtes (55) empfiehlt bei der Untersuchung von Kunststoff-Folien die Extraktion mit Wasser, Essigsäure, Äthylalkohol und Äther. (56 r)

Bei der Untersuchung von Kunststoffgefäßen aus Melaminharz und flachen Gegenständen mit einer Oberfläche von Melaminharz wird die Bestimmung der Formaldehydabgabe an einige Lösungsmittel empfohlen. (56 s, 56 t)

Ein besonderes Problem stellen auf Grund ihrer Extrahierbarkeit weichmacherhaltige Kunststoffe dar, da Weichmacher den mengenmäßig größten Teil potentiell (d.h. im Extremfall) löslicher Stoffe ausmachen: Ein Kunststoff kann mehr als 40 % Weichmacher enthalten. Meist sind die Weichmacher - mit Ausnahme einiger polymerer Produkte - auf Grund ihrer lipophilen Natur außerordentlich leicht in Fetten, Ölen und Aromastoffen löslich. Bei fetthaltigen Lebensmitteln kommt es dabei nicht nur auf den absoluten Fettgehalt an, sondern auf die Verteilung des Fettes im Lebensmittel. Dünne Fettschichten, die auf der Oberfläche ausölen, sind wirksamere Lösungsmittel als etwa ein hoher Fettgehalt, der im Lebensmittel fest gebunden bleibt. Ein hoher Fettanteil in einer wäßrigen Emulsion mit Wasser als äußerer Phase kann überhaupt nicht wirksam werden, solange die Emulsion intakt bleibt. Manche weichgemachten Kunststoffe sind besonders aromaempfindlich; der Weichmacher "schwitzt" dabei aus und bildet zusammen mit dem Aroma auf der Oberfläche eine Schmiere. (11)

Verschiedene Autoren testeten die Beständigkeit weichmacherhaltiger Kunststoffe einer Reihe von Extraktionsmitteln gegenüber:

1. Doolittle (57) untersuchte ein Mischpolymerisat aus 95 % Vinylchlorid und 5 % Vinylacetat, welches mit einer Reihe ver-

schiedener Weichmacher verarbeitet worden war, auf Beständigkeit der Weichmacher gegenüber Mineralöl und Wasser.

Je größer der Kohlenwasserstoffanteil des Weichmachers war, desto leichter wurde er vom Mineralöl herausgelöst (Di-2-äthylhexylsebacat zu 30,2 %), und je höher der prozentuale Anteil an Sauerstoffatomen im Molekül war, desto größer war die Extrahierbarkeit durch Wasser. (Dimethoxyäthylphthalat zu 4,6 %)

2. J. Fink (58) berichtet über die Abgabe von Triphenylphosphat und Dimethoxyäthylphthalat aus Celluloseacetatfolien, welche je 10 % der genannten Weichmacher enthielten, an Methanol, Äther, Petroläther und Kokosfett.

Je dünner die Folien waren, desto größere Mengen des Weichmachers wurden herausgelöst. Die Größe der Folienstücke dagegen war ohne Einfluß auf die extrahierte Menge.

Kokosfett, welches in dünner Schicht auf die Folien aufgebracht wurde, nahm innerhalb von 24 h bis zu 0,2 % seines Gewichtes an Triphenylphosphat auf.

3. Eich (59) lagerte Kunststoff-Folien in Schmalz und Erdnußöl und bestimmte unter verschiedenen Versuchsbedingungen den herausgelösten Anteil an Weichmacher. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tab. 6 zusammengestellt:

Tab. 6 Extraktion von Kunststoff-Folien

Folie		Versuchsbedingungen		Extrahierte Weichmachermenge	
Kunststoff	Weichmacher	Temperatur	Zeit	Schmalz	Erdnußöl
Polyvinylidenchlorid	Butylstearat	Zimmertemp.	3 Tage	28,4 %	39,9 %
"	"	100°	2 h	83,5 %	82,5 %
Regenerierte Cellulose	Dicyclohexylphthalat	Zimmertemp.	4 h	69,2 %	46,5 %
PVC		100°	2 h	53,4 %	51,8 %

4. Kaskie (60) testete die Beständigkeit von PVC-Folien, welche mit 2-Äthylhexyldiphenylphosphat weichgemacht waren, einer Reihe von Lösungsmitteln und Lebensmitteln gegenüber.

Er stellte fest, daß Wasser, schwache Säuren und Laugen, sowie Neutralsalzlösungen nur Spuren des Weichmachers extrahieren.

(z.B. extrahierte eine 1 %ige Lösung von Natriumbikarbonat nach vierwöchiger Einwirkungszeit bei 38°C nur $0,0100\text{ mg}$ des Weichmachers / cm^2 der Folie)

Größere Mengen wurden von Lebensmitteln aufgenommen, die, in die genannten Folien verpackt, gelagert wurden. So extrahierte Beefsteak bei einer Lagerzeit von 4 Wochen bei $-20,5^{\circ}\text{C}$ $0,088\text{ mg}$ und Speck nach einer Lagerung von 4 Wochen bei $+1^{\circ}\text{C}$ $0,212\text{ mg/cm}^2$ der Folie, das entsprach 11,2 % des ursprünglich in der Folie vorhandenen Weichmachers.

5. Thinius und Schröder (61) untersuchten das Verhalten von PVC-Folien (weichgemacht mit Trikresylphosphat, C_7 - C_9 -Alkohol-phthalat, Diäthylphthalat, Mesamoll oder Diglykoldixylenyl-äther) gegenüber zucker-, stärke- und eiweißhaltigen Lebensmitteln, sowie einigen Ölen, Fetten, Emulsionen und Flüssigkeiten.

Die Weichmacherwanderung stieg erwartungsgemäß mit steigendem Fettgehalt des Lebensmittels. Sehr gering war sie bei Produkten mit hohem Di- und Polysaccharidgehalt (Mehl, Zucker, Marmelade, Zwieback). Eiweiß bewirkte eine leichte Hemmung der Wanderung: sowohl bei Vollmilch- wie bei Magermilchpulver erfolgte unter den gleichen Versuchsbedingungen nur eine Wanderung von 1 % des Weichmachers. Bei hohen Fettgehalten jedoch (Käse mit 40 % Fett i.T.) kam die wanderungshemmende Wirkung des Eiweißes nicht mehr zur Auswirkung: Der Weichmacherübergang war beträchtlich.

Eine Geschmacksbeeinflussung durch Weichmacher konnte bei Milch festgestellt werden.

6. Verschiedene Autoren berichteten über die Extrahierbarkeit von

Trikresylphosphat (TKP):

Nach Bergner (62) kann Kokosfett bei der Berührung mit TKP-haltigen PVC-Unterlagen schon nach 1 h 0,9 %, nach 2 Wochen etwa 2,9 % TKP herauslösen.

Borgmann und Hunold (25) extrahierten TKP-haltige PVC-Folien mit Maisöl, Schweineschmalz und Paraffinum liquidum bei 36° und 50°C. Sie fanden bei beiden Temperaturen Extraktionswerte von 5,3 % bzw. 5,4 % bzw. 6,8 %.

Thinius (13) testete die Extrahierbarkeit TKP-haltiger PVC-Folien mit Mohnöl und Rapsöl in 10 Tagen, bei 20°C und 40°C. Die beiden Öle lösten je nach Versuchsanordnung 20 - 50 % des Weichmachers aus den Folien heraus.

Auch Alkohol in verschiedenen Konzentrationen extrahierte aus PVC-Stopfen einen großen Teil des TKP, sowohl bei direktem Kontakt, als auch durch Einwirkung der Alkoholdämpfe.

Die zitierten Arbeiten zeigen, daß Weichmacher - besonders von fetthaltigen Lebensmitteln - in beachtlichen Mengen herausgelöst werden können.

Auch soweit es sich dabei um physiologisch unwirksame Substanzen handelt, ist doch eine Überprüfung der Frage nötig, ob durch den Übergang eine Verfälschung des Lebensmittels gegeben ist. (48)

Bei der Beurteilung weichmacherhaltiger Kunststoffe ist weiterhin zu beachten, daß die Weichmacher einen Einfluß auf die Extrahierbarkeit anderer Bestandteile des Kunststoffes ausüben können.

So wiesen Klimmer und Nebel (63) nach, daß aus Weich-PVC wesentlich höhere Mengen an Stabilisatoren herausgelöst wurden als aus Hart-PVC:

Die Autoren fanden nach Extraktion von Weich-PVC mit Wein die 50 - 75fache Menge und mit Olivenöl die 23fache Menge des Stabili-

sators "17 M" (schwefelhaltige organische Dibutylzinnverbindung) als nach Extraktion von Hart-PVC. Der Stabilisator "52" (organische Dibutylzinnverbindung) wurde von Olivenöl aus Weich-PVC in 16facher Menge im Vergleich zu Hart-PVC extrahiert.

Gesetzliche Regelungen über die Verwendung weichmacherhaltiger Kunststoffe zur Verpackung von Lebensmitteln:

Nach Erarbeitung der erforderlichen Grundlagen zur biologischen Charakterisierung und zur Bestimmung der Extrahierbarkeit des Kunststoffmaterials (bei Kenntnis der Ausgangsstoffe und Hilfsstoffe unter Berücksichtigung möglicher Umwandlungsprodukte) kann die Einstufung der Kunststoffe in gesundheitlicher Hinsicht vorgenommen werden.

Die einzelnen Länder sind bisher zu folgenden Entscheidungen über die Zulassung weichmacherhaltiger Kunststoffe als Lebensmittelverpackungsmaterial gekommen.

Bundesrepublik Deutschland:

Um die Beurteilung der Bedarfsgegenstände im Sinne des Lebensmittelgesetzes zu erleichtern, hat der Präsident des Bundesgesundheitsamtes im Frühjahr 1957 die "Kommission des Bundesgesundheitsamtes für die gesundheitliche Beurteilung von Kunststoffen und anderen Polymeren im Rahmen des Lebensmittelgesetzes" (Kunststoffkommission des BGA) einberufen. (55) Aufgabe dieser Kommission ist es, die mit Lebensmitteln in Berührung kommenden Kunststoffe unter gesundheitlichen Gesichtspunkten zu überprüfen und Methoden für ihre chemische Untersuchung auszuarbeiten.

In der Kommission erarbeiten Lebensmittelchemiker, Toxikologen, Technologen und Sachverständige der Kunststoffindustrie Empfehlungen, die im Bundesgesundheitsblatt veröffentlicht werden und künftigen gesetzlichen Regelungen den Weg bereiten sollen.

Wer Kunststoffe als Bedarfsgegenstände verwendet, kann sich unter der Voraussetzung, daß die technische Gebrauchseignung im Einzelfall gegeben ist, hinsichtlich der gesundheitlichen Be-

urteilung auf diese Empfehlungen stützen.

Bisher sind im Bundesgesundheitsblatt 16 Mitteilungen als Empfehlungen zur gesundheitlichen Beurteilung von Kunststoffen und 4 Mitteilungen zur Untersuchung von Kunststoffen, soweit sie als Bedarfsgegenstände im Sinne des § 2 Abs. 1 des Lebensmittelgesetzes verwendet werden, veröffentlicht worden. (56)

Grundsätzlich ist nach diesen Empfehlungen die Verwendung weichmacherhaltiger Hochpolymerer zur Herstellung von Bedarfsgegenständen - im Sinne von § 2 Nr. 1 des Lebensmittelgesetzes in der Fassung des Gesetzes zur Änderung und Ergänzung des Lebensmittelgesetzes vom 21.12.1958 - unerwünscht, sofern die Gefahr besteht, daß die Weichmacher auf die Lebensmittel übergehen. (56 d)

Die meisten der in den Empfehlungen erwähnten Kunststoffe dürfen ausdrücklich nur in weichmacherfreier Form verwendet werden. (56 k)

Ausnahmen werden nur für wenige Kunststoffe gemacht, die eine genau begrenzte Menge der 3 Weichmacher Dibutylphthalat, Dicyclohexylphthalat und Acetyltributylcitrat enthalten dürfen.

Dies sind:

1. Zellglas-Wetterfest und Zellglas-Tiefgefrierware

Cellulosenitratlack, der zur Beschichtung dieser beiden Zellglassorten verwendet wird, darf mit den 3 genannten Weichmachern verarbeitet werden. Der Gesamtgehalt an Weichmachern darf pro Schichtseite höchstens 10 mg/dm^2 (Zellglas-Wetterfest), bzw. 20 mg/dm^2 (Zellglas-Tiefgefrierware) betragen.

Dibutylphthalat jedoch darf höchstens in Mengen von 5 mg/dm^2 bzw. 10 mg/dm^2 Verwendung finden. (56f, 56i)

2. Für Acryl- und Methacrylsäure - Blockpolymerisate sowie für Polymethacrylate, Methacrylat - Mischpolymerisate und Mischungen von Polymethacrylaten mit Polymerisaten darf bis zu höchstens 3 % Dibutylphthalat verwendet werden.

Laut Anmerkung in diesen Mitteilungen haben Versuche ergeben, daß Dibutylphthalat in diesen Konzentrationen aus den genannten Polymeren nicht auswandert. (56 o)

USA:

In den USA gelten sämtliche Stoffe, die aus dem Verpackungsmaterial in Lebensmittel eindringen, nach dem Gesetz als Zusätze, die einer Prüfung und Genehmigung durch die Food and Drug Administration unterworfen sind. Die als annehmbar angesehenen Kunststoffbestandteile werden laufend in Listen veröffentlicht. (47, 48) Die dort genehmigten Weichmacher sind in Tab. 7 zusammengestellt:

Tab. 7 In den USA als nicht toxisch angesehene Weichmacher

Acetyltributylcitrat	Diisooctylphthalat (Nur für Lebensmittel mit hohem Wassergehalt)
Acetyltriäthylcitrat	Diäthylphthalat
2-Äthylhexyldiphenylphosphat	Glycerinmonooleat
Äthylphthaläthylglykolat	Glycerintriacetat
Butylstearat	Monoisopropylcitrat
Butylphthalylbutylglykolat	Epoxydiertes Sojabohnenöl
p-tert. Butylphenylsalicylat	Mono-, Di-, Tristearylcitrat
Dibutylsebacat	Triäthylcitrat
Diisobutyladipat	3-(2-Xenoxyl)-1,2-epoxypropan
Di-2-äthylhexylphthalat	
(nur für Lebensmittel mit hohem Wassergehalt)	

Aus gesundheitlichen Gründen wurden u.a. Methoxyäthyloleat, Kresyldiphenylphosphat und Trikresylphosphat nicht in die Liste mit aufgenommen.

In Federal Reg. vom 27.2.1960 (Titel 21, Sec. 121,87) wurde für Nitrocelluloselackbeschichtungen von Cellophan zur Verpackung von Lebensmitteln eine Verlängerungsfrist zugestanden für die Verwendung der Weichmacher Dibutylphthalat und Dicyclohexylphthalat, bis zu einer Grenze von 2,17 %.

Großbritannien:

Der Toxizitätsausschuß der British Plastics Federation befaßt sich in seinem Bericht (Publication No. 40, London 1958) mit der Toxizität der Weichmacher und Stabilisatoren im Kontakt mit Lebensmitteln. Darin wird eine Einteilung der Stoffe in 3 Kategorien vorgenommen:

A = ungiftige oder wenig toxische Stoffe

B = Stoffe, bei denen noch gewisse Zweifel darüber bestehen, ob ihre Anwendung ratsam ist.

C = toxische Stoffe

In Tab. 8 sind die nach diesem Gesichtspunkt eingeteilten Weichmacher aufgeführt:

Tab. 8 In Großbritannien als nicht toxisch und toxisch
angesehene Weichmacher

A	Phthalate : Dibutyl-, Diäthyl-, Dibutoxyäthyl-, Diäthylhexyl-, Dinonyl-, Dialkyl 79-, Diisooctyl-, Diisobutyl-, Dicapryl-, Dimethylcyclohexyl-
	Sebacate : Dibutyl-, Diäthyl-, Diäthylhexyl-, Dinonyl-, Dialkyl 79-, Diisooctyl-, Polypropylen- (bzw. modifiziert mit Alkoholen oder Fettsäuren), Dimethylcyclohexyl-
	Adipate : Dibutyl-, Diäthylhexyl-, Polypropylen (bzw. modifiziert mit Alkoholen oder Fettsäuren) Dicyclohexyl-, Dimethylcyclohexyl-, Dialkyl 79-, Dibutoxyäthyl-, Dinonyl-
	Epoxydierte Pflanzenöle, Octylepoxystearat
	Stearate : Butyl-, Cyclohexyl-, Methylcyclohexyl-,
	Oleate : Butyl-, Methyl-, Amyl-

Tab. 8 (Fortsetzung)

In Großbritannien als nicht toxisch und toxisch
angesehene Weichmacher

	Ricinoleate	: Butyl-, Methyl-, Butylacetyl-
	Dibutyltartrat, Glycerindiacetat, Glycerintriacetat, Tri- äthylenglykoldicaprylat	
	Glykolate	: Butylphthalylbutyl-, Äthylphthalyläthyl-, Methylphthalyläthyl-
B	Phthalate	: Dimethyl-, Diäryl-, Methylbenzyl-
	Phosphate	: Triphenyl-, Tri- (2-chloräthyl)-, 2-Äthyl- hexyldiphenyl-
	Glycerinmonolactat, Bis- (dimethylcyclohexyl)-oxalat,	
	Citrate	: Tricyclohexyl-, Tributyl-
C	Phosphate	: Trikresyl-, Triäthyl-, Trichlorphenyl-, Tri- butyl-, Triäthyl-, Triäthylhexyl-, Trinonyl-

Österreich:

In Österreich existiert ein Erlaß des österreichischen Bundesministeriums für soziale Verwaltung vom 27.8.1959 (64) über die Zulassung bestimmter Kunststoffe für die Herstellung von Gefäßen, Geschirr und Behältnissen (Umhüllungen) im Lebensmittelverkehr. Danach sind Polyvinylchlorid, Polyvinylidenchlorid, Polyvinylacetat und Mischpolymerisate untereinander zugelassen, soweit Weichmacher oder Stabilisatoren keine Verwendung finden.

Frankreich:

Die bisherigen Anforderungen für Kunststoffe und Verpackungsmaterial für Lebensmittel in Frankreich sind in den Veröffentlichungen des Journal Officiel niedergelegt. (65, 66)

Folgende Weichmacher werden als zulässig erklärt: (Tab. 9)

Tab. 9 In Frankreich als nicht toxisch angesehene Weichmacher

Äthyl-, Butyl-, Amyl-stearat
Äthyl-, Butyl-, Amyl-ricinoleat
Rizinusöl, Paraffinöl
Octyl- und 2-Äthylhexyladipat, -sebacat, -phthalat

Die Überwachung der Kunststoffserzeugnisse im Sinne der genannten gesetzlichen Bestimmungen erfolgt durch die Untersuchungsämter, da die Handhabe fehlt, die einzelnen Verarbeitungsbetriebe in ihren Rezepturen zu kontrollieren. Der Angelpunkt einer solchen Überwachung ist die Analytik, mit deren Hilfe eine möglichst rasche und eindeutige Charakterisierung des betreffenden Kunststoffserzeugnisses erreicht werden soll.

Auf weichmacherhaltige Kunststoffe bezogen, ergibt sich für die Analytik die Aufgabe, Weichmacher in Kunststoffen und in Lebensmitteln, die mit weichmacherhaltigen Kunststoffen in Berührung gekommen sind, nachzuweisen und eventuell quantitativ zu bestimmen.

Die Analytik der Weichmacher:

Zur Analytik von Weichmachern können die verschiedensten chemischen und physikalischen Untersuchungsverfahren herangezogen werden.

Soll der Weichmacher in Kunststoffen oder Lebensmitteln, die mit weichgemachten Kunststoffen in Berührung gekommen sind, analysiert werden, ist es im allgemeinen erforderlich, den Weichmacher zuvor zu isolieren.

Das Extraktionsmittel soll den Weichmacher möglichst quantitativ abtrennen und möglichst wenig andere Bestandteile mit herauslösen.

Abtrennung von Weichmachern aus Kunststoffen:

Nach Thinius und Schröder (67) liegt der Weichmacher im System

Eukolloid + Weichmacher in verschiedenem Zustand vor: Ein Teil ist durch Nebenvalenzen ziemlich fest am Makromolekül verankert, der Rest jedoch ohne eine derartige Verknüpfung in den Solvatationshüllen oder in der äußeren Sphäre des Solvatationskomplexes eingelagert.

Die Entfernung des solvatgebundenen Weichmacheranteils ist z.B. möglich durch aromatische, aliphatische und chlorierte Kohlenwasserstoffe, sowie niedere Alkohole und Äther. In manchen Fällen - bei denen das Molvolumen und die Struktur des Weichmachers von Einfluß ist - vermögen auch dipollose Flüssigkeiten mit kugelförmigem Molekülbau (CCl_4) oder mit Benzolringstruktur, bestehende Nebenvalenzbindungen ganz zu lösen. Immer gelingt dies aber, nach den Untersuchungen von Thinius (67, 68), nur mit Äther, der eine vollständige und schnelle Abtrennung der Weichmacher ermöglicht.

Die Extraktion wird im allgemeinen in der Soxhletapparatur vorgenommen.

Whitnack und Gantz (69) beschreiben einen Apparat zur Semimikroextraktion, womit sie 98 % des Weichmachers aus Celluloseacetat extrahieren.

In seltenen Fällen wurde auch zur Isolierung von Weichmachern die Vakuumdestillation (69, 70) und die Molekulardestillation (71) herangezogen.

Andererseits ist es auch möglich, den Kunststoff vollständig aufzulösen (z.B. in siedendem Aceton) und durch Zusatz von Petroläther den Plast auszufällen, wobei der Weichmacher in der Lösung zurückbleibt. (72, 73)

Abtrennung von Weichmachern aus Lebensmitteln:

Das Problem der Isolierung von Weichmachern aus Lebensmitteln ist noch nicht zufriedenstellend gelöst worden.

Besondere Schwierigkeiten bereitet die Isolierung aus fetthaltigen

Produkten, da viele Weichmacher den Fettsäureglyceriden der Fette in ihrem chemischen Aufbau sehr ähnlich sind und sich daher auch gegenüber Extraktionsmitteln ähnlich verhalten.

Nach einer unveröffentlichten Arbeitsvorschrift der Kunststoffkommission im Bundesgesundheitsamt zur gaschromatographischen Bestimmung einiger monomerer Weichmacher (74) werden die Lebensmittel mit Methylenchlorid erschöpfend extrahiert. Der eingeeengte Extrakt kann zur gaschromatographischen Bestimmung von Diäthylphthalat direkt verwendet werden. Zur Bestimmung von Diäthylhexylphthalat und Tributylacetylcitrat in grünen Erbsen und Linsen wird er mit Methanol durchgeschüttelt und die methanolische Lösung zur Analyse verwandt. (74 a)

Häufiger macht man jedoch von der Möglichkeit Gebrauch, nicht den Weichmacher, sondern die durch Verseifung entstandenen Alkohole oder Säuren abzutrennen, vor allem, wenn man stark fetthaltige Lebensmittel verarbeitet.

Die Alkohole können durch Ausschütteln mit Äther aus der Verseifungsflotte isoliert werden, (74 c, 75, 76) die niederen Alkohole (bis einschließlich Hexanol) auch durch Destillation. (76)

Zur Isolierung der Säuren aus Di-, Oxydi-, Oxytricarbonsäureestern und einigen Sulfosäureestern macht man sich die Eigenschaft zunutze, daß ihre Kaliumsalze alkoholunlöslich sind, bei der Verseifung ausfallen und abfiltriert werden können. Auf diese Weise wird z.B. nach einer unveröffentlichten Vorschrift der Farbwerke Hoechst aus fetten Lebensmitteln o-Phthalsäure isoliert. (74 b)

Niedere Monocarbonsäuren werden durch Wasserdampfdestillation, höhere durch Ätherextraktion abgetrennt. (17)

Chemische Methoden zur Analyse von Weichmachern:

Zur Bestimmung der chemischen Zusammensetzung und des Molekülaufbaues eines Stoffes gehört der Nachweis der Elemente im Molekül und die Bestimmung funktioneller Gruppen.

Nachweis der Elemente: Bei Weichmachern können neben Kohlen-

stoff, Sauerstoff und Wasserstoff die Elemente Schwefel, Stickstoff und Phosphor auftreten. Sie lassen sich nach Laissaigne durch Erhitzen der Prüfsubstanz mit metallischem Kalium in der sich ergebenden Schmelze nachweisen. (17, 77, 78, 79, 80)
Die quantitative Bestimmung von Schwefel, Chlor und Phosphor erfolgt nach Parr (81) und Wurzschnitt (82), die des Stickstoffs nach Dumas (83) oder Kjeldahl. (84)

Nachweis funktioneller Gruppen: Weichmacher können ihrem chemischen Aufbau nach folgenden Verbindungsklassen entstammen:

Ester, Alkohole, Äther, Ketone, Acetale, Kohlenwasserstoffe, halogenierte und nitrierte Kohlenwasserstoffe, epoxydierte Weichmacher, Anilide, Sulfanilide, Sulfamide.

Die meisten Weichmacher sind Ester mit Säurekomponenten wie Phosphorsäure, Mono-, Di- und Oxycarbonsäuren, Sulfosäuren oder Epoxyfettsäuren.

Diese können verestert sein mit aliphatischen (auch chlorierten) und aromatischen Alkoholen, mit Polyolen und Ätheralkoholen, sowie Phenolen, Xylolen, Kresolen und Toluol.

Zur Zuordnung der Weichmacher in eine dieser Gruppen führt man die entsprechenden kennzeichnenden Reaktionen aus, als da sind Bestimmung der Verseifungszahl (DIN 53401) und Eponzahl (17), Alkoxybestimmung (85, 86), Prüfung auf das Vorliegen von primären, sekundären oder tertiären Alkoholgruppierungen (87), Nachweis von Polyolen (88), Hydrierjodzahl zur Bestimmung aliphatischer und aromatischer Doppelbindungen (89), Prüfung auf das Vorliegen von Carbonylgruppen, z.B. mit Dinitrophenylhydrazin (90), Bestimmung von Nitrogruppen, z.B. mit Titantrichlorid-Eisessig (17), Bestimmung von Ammoniak, primärem, sekundärem und tertiärem Basenstickstoff (17) und der Nachweis aromatischer Amine (17).

Physikalische Methoden zur Analyse von Weichmachern:

Eine Reihe von physikalischen Eigenschaften der Weichmacher sind

zu ihrer Analytik verwendbar. (91)

Dies sind:

1. Mechanische Eigenschaften:

Dichte

Oberflächenspannung

Viskosität

2. Eigenschaften, welche Wechselwirkung mit Strahlungsenergie einschließen:

Absorption von Strahlungsenergie

(ultraviolette und infrarote Strahlung)

Brechungszahl

3. Elektrische Eigenschaften:

Dielektrizitätskonstante

4. Thermische Eigenschaften:

Übergangstemperaturen (Siedepunkte)

Reaktionswärmen (Verbrennung)

Außerdem kommen an physikalischen Trennmethoden in Frage:

Die Adsorptionschromatographie

Die Verteilungschromatographie

1. Analytik mit Hilfe von mechanischen Eigenschaften:

Die Bestimmung der Dichte und der Viskosität von Weichmachern wird nach DIN-Vorschriften ausgeführt. (17)

Thinus und Möbius führten als weitere charakteristische Größen den Parachor (aus Molekulargewicht, Oberflächenspannung und Dichte) und den Rheochor (aus Molekulargewicht, Dichte und Viskosität) ein. (92)

2. Analytik mit Hilfe von Eigenschaften, welche Wechselwirkung mit Strahlungsenergie einschließen:

Sehr häufig wird die Infrarotspektroskopie zur Charakterisierung von Weichmachern herangezogen.

Barnes und Mitarbeiter (93) gaben eine Übersicht über die Infrarotspektroskopie bei der Analytik einiger Weichmacher.

Haslam und Mitarbeiter (78) charakterisierten 19 Weichmacher nach deren Extraktion aus dem Kunststoff mit Äther durch IR-Spektren.

79 Infrarotspektren veröffentlichten Kendall und Mitarbeiter. (95) Zur Analytik nahmen sie Leitbanden zu Hilfe: Die Esterbande (1735 cm^{-1}), die aromatische Bande ($1600, 1500\text{ cm}^{-1}$), die Sulfonamidbande ($1340, 1160\text{ cm}^{-1}$) und die Bande bei 190 cm^{-1} für chlorhaltige Weichmacher.

Pristerer (96) berichtete über die Infrarotspektren der Phthalate, Rath und Mitarbeiter (97) über die IR-Spektren verschiedener Weichmacher.

Einer säulenchromatographischen Vortrennung unterwarfen Cachia und Mitarbeiter (98) verschiedene Weichmachermischungen, bevor sie an Hand von IR-Spektren die einzelnen Bestandteile identifizierten.

Esterweichmacher lassen sich auch ohne Isolierung aus dem Kunststoff (PVC) mit Hilfe der Infrarotspektroskopie bestimmen: Luther (99) stellte fest, daß in PVC-Phthalatweichmachersystemen bestimmte Schlüsselfrequenzen in den Infrarotspektren vorhanden sind, die in einem technisch interessierenden Konzentrationsbereich dem Lambert-Beerschen Gesetz folgen. Sie eignen sich daher für die quantitative Bestimmung von Weichmachern in PVC-Folien. Für das PVC ist die CH_2 -Schwingung bei 1430 cm^{-1}

und für die Weichmacher die Esterbande bei 1728 cm^{-1} maßgebend.

Eich (59) machte sich diese Tatsache bei den Untersuchungen über die Weichmacherwanderung zunutze.

Ein Schema zur Identifizierung von Weichmachern durch ihre IR-Spektren findet sich bei Welcher (100).

Zahlreiche Infrarotspektren von Weichmachern, sowie von Alkoholen und Säuren, die bei der Verseifung von Esterweichmachern entstehen, sind auch von Hummel (80) zusammengestellt worden.

Dicarbonsäuren, die in Weichmachern und Polyestern vorkommen, können unter anderem in Form ihrer Dibenzylamide infrarotspektroskopisch identifiziert werden (101).

Absorptionsspektren im ultravioletten Bereich sind zur Identifizierung von Weichmachern weniger wertvoll als Absorptionsspektren im Infraroten, da es sich bei Weichmachern meistens um gesättigte organische Verbindungen handelt, deren Moleküle wenig Doppelbindungen enthalten.

UV-Spektren verschiedener Weichmacher finden sich bei Hagethorn und Kesteren (102), Staub (103), sowie Diemair und Goeckel (104).

Phthalsäure- oder Fumarsäureester neben Styrol in Polyesterharzen bestimmten Hirt und Mitarbeiter (105) unter Benutzung der Extinktionskoeffizienten bei 282 und 291 nm. (Lösungsmittel: Chloroform) Sie zeigten die Möglichkeit auf, die Komponenten in einer Mischung auf Grund dieser Extinktionskoeffizienten zu errechnen ohne eine Trennung vorzunehmen. Phthalate lassen sich photometrisch bestimmen, indem man die Phthalsäure isoliert und in einer salzsauren Lösung die Extinktion bei 276 (270) nm mißt. (106, 107)

Spektrophotometrische Bestimmungen im sichtbaren Bereich können unter Zuhilfenahme von Derivaten auch bei Weichmachern ausge-

führt werden.

So werden Carbonsäureester durch Umsetzung mit Hydroxylamin in die Hydroxamate überführt, welche mit Eisen-III-Salzen stark gefärbte Chelatkomplexe bilden. (108, 109, 110)

Zur quantitativen Bestimmung von Phthalaten und Succinaten werden die mit Hydrochinon gebildeten Chinizarinderivate herangezogen. (111)

Zum Nachweis und zur Bestimmung von Trikresylphosphat können verschiedene Farbreaktionen verwendet werden. So liefert die Kondensation von o-Kresol mit Benzaldehyd einen gelbroten Benzoinfarbstoff, den m- und p-Kresol nicht bilden können. (112, 113)

Die Farbbildung der Kresole mit Nitrobenzoldiazoniumchlorid wird zur papierchromatographischen Trennung und zur photometrischen Bestimmung verwandt. (114)

Zur Bestimmung geringer Mengen von Trikresylphosphat neben Dibutylphthalat wurde die Farbreaktion der Kresole mit 2,6-Dibromchinonchlorimid herangezogen. (115)

3. Analytik mit Hilfe elektrischer Eigenschaften:

Elliot et al. (116) bestimmten kleine Weichmachermengen (0,3 ml) durch Messung der Dielektrizitätskonstanten (DK) in Abhängigkeit von der Temperatur und beschrieben hierzu einen neuen Zellentyp. Die Messung erfolgte bei einer Frequenz von 10 Mc/sec ($= 10 \times 10^6$ Schwingungen/sec) und Temperaturen von -50° bis $+50^{\circ}\text{C}$. Die Weichmacher lieferten charakteristische Kurven, die ihre Identifizierung ermöglichen, sofern keine größeren Verunreinigungen durch fremde Substanzen vorliegen.

Die Polarographie kann zur Bestimmung von Phthalaten verwandt werden. (117 - 121) Die Autoren beschrieben zwei polarographische Stufen, deren erstere sich bei den verschiedenen Phthala-

ten unterscheidet.

4. Analytik mit Hilfe thermischer Eigenschaften:

Siedepunkte von Weichmachern können im allgemeinen nur unter vermindertem Druck bestimmt werden. Angaben über Siedepunkte und Siedebereiche verschiedener Weichmacher finden sich bei Gnam-Sommer. (17)

Der Flammpunkt von Weichmachern wird im offenen Tiegel nach einer DIN-Vorschrift (17) ermittelt.

5. Chromatographie der Weichmacher:

Papierchromatographische Trennungen von Weichmachern beschreiben Burns (122) und Gude (125). Beide Autoren imprägnierten das Papier mit PVC.

Dünnschichtchromatographische Weichmachertrennungen auf Kieselgelplatten wurden von Peereboom (123), Braun (124), sowie Diemair und Goeckel (104) ausgeführt, säulenchromatographische Trennungen von Cachia et al. (98)

Cook und Mitarbeiter trennten Dibutyl-, Benzylbutyl- und Dibenzylphthalat mit Hilfe der Gaschromatographie unter Verwendung einer kurzen Kolonne, die bis 234°C aufgeheizt wurde. (127) Die gaschromatographische Bestimmung von Diäthylphthalat, Diäthylhexylphthalat und Tributylacetylcitrat behandelt eine unveröffentlichte Arbeitsvorschrift der Kunststoffkommission im Bundesgesundheitsamt. (74)

Auch die durch Verseifung von Esterweichmachern entstehenden Alkohole und Säuren können auf chromatographischem Wege getrennt und identifiziert werden. (149)

Niedere Alkohole werden in Form von Derivaten, z.B. als Xanthogenate (128) oder Dinitrobenzoate (129 - 135) papier- oder

dünnschichtchromatographisch getrennt. Höhere Alkohole lassen sich auf petroleumimprägniertem Papier (136, 137), mehrwertige Alkohole auf unbehandeltem Papier oder auf Dünnschichtplatten chromatographieren. (138 - 140) Zur gaschromatographischen Bestimmung können die Alkohole direkt, ohne Überführung in Derivate, verwandt werden. (74 c, 75)

Die Säurekomponenten von Weichmachern werden nach Clarke (141) papierchromatographisch und nach Knappe und Peteri (142) durch Verteilungschromatographie auf Dünnschichtplatten getrennt.

Die Papierchromatographie der Ammoniumsalze aliphatischer Dicarbonsäuren beschreibt Seher (143). Braun und Geenen (144) trennten die Ammoniumsalze verschiedener, zur Herstellung von Weichmachern verwendeter Säuren, auf dünnschichtchromatographischem Weg.

Auch die Chromatographie von Säuren in Form verschiedener Derivate ist bekannt: Die p-Phenylphenacyl ester niedermolekularer Fettsäuren verwendeten Kirchner und Mitarbeiter (145), sowie Drake und Bronitsky. (146)

Franc nitrierte aromatische Mono- und Dicarbonsäuren vor der Chromatographie. (147)

Zur gaschromatographischen Bestimmung werden die Säuren in ihre Methylester durch Umsetzung mit Diazomethan überführt. (148)

Eine große Zahl weiterer physikalischer und chemischer Verfahren zur Analytik einzelner Weichmacher und Weichmachergruppen sind in den Monographien von Gnam-Sommer (17), Hummel (80) und Thinius (79) zusammengefaßt.

Trotz der zweifellos umfangreichen Literatur, die über die Analytik der Weichmacher berichtet, ist dieses Problem bis heute keineswegs erschöpfend behandelt worden.

Insbesondere fehlt es an einfachen, schnell auszuführenden Metho-

den, die es gestatten, auch ohne großen apparativen Aufwand, Weichmacher in Kunststoffen oder Lebensmitteln nachzuweisen und gegebenenfalls quantitativ zu bestimmen. Die besonderen Schwierigkeiten der Weichmacheranalytik lassen sich in folgenden 5 Punkten zusammenfassen:

1. Die Zahl der in Frage kommenden Weichmacher ist relativ hoch.
2. Weichmacher sind im allgemeinen recht reaktionsträge Substanzen.
3. Der Nachweis von Weichmachern ist häufig in so komplexen Systemen wie Kunststoffen und besonders Lebensmitteln erforderlich.
4. Häufig stehen nur geringe Weichmachermengen zur Analyse zur Verfügung (vor allen Dingen bei dem Nachweis von Weichmachern in Lebensmitteln).
5. Weichmacher ähneln sich untereinander in ihrem chemischen Aufbau und in ihren physikalischen Eigenschaften und sind häufig auch den Fettsäureglyceriden der Fette chemisch verwandt.

Bei den folgenden Untersuchungen, die zur Analytik der Weichmacher beitragen sollten, wurden besonders dünn-schicht-chromatographische Methoden bevorzugt, da sie mit geringen Substanzmengen arbeiten und da innerhalb kurzer Zeit die Bestandteile auch komplizierter Mischungen - insbesondere lipophiler Substanzen - analytisch charakterisiert werden können.

II. EXPERIMENTELLER TEIL

Die Analytik von Weichmachern, unter besonderer Berücksichtigung dünnschichtchromatographischer Methoden

Die Ausführung der Dünnschichtchromatographie - wie die Herstellung der Platten, die Trocknung der Schichten, die Aufbewahrung der Platten, das Auftragen der Substanzen und das Entwickeln der Chromatogramme - erfolgte nach den von Stahl angegebenen Methoden (149), unter Benutzung der Grundausrüstung zur Dünnschichtchromatographie nach Stahl. (150)

Zur qualitativen Trennung wurden - wenn nicht anders angegeben - pro Substanz 10 μ aufgetragen.

Als Testsubstanzen standen folgende Weichmacher zur Verfügung: (In Klammern ist die Bezifferung der Weichmacher in Tabellen und Abbildungen angegeben).

Acetate :	Glycerintriacetat	(5)
Adipate :	Di-2-äthylhexyladipat	(13)
	Dinonyladipat	(12)
Citrate :	Tributylcitrat	(7)
	Acetyltri-2-äthylhexylcitrat	(14)
Phosphate:	Trikresylphosphat	(9)
	Trichloräthylphosphat	(3)
	Tri-2-äthylhexylphosphat	(8)
Polymere Weichmacher :	Polyadipat (Ultramoll I)	(1)
Phthalate :	Dibutylphthalat	(10)
	Diisobutylphthalat	(11)
	Di-2-äthylhexylphthalat	(17)
	Dinonylphthalat	(16)
	Didecylphthalat	(15)
	Dimethoxyäthylphthalat	(4)
	Dibutoxyäthylphthalat	(6)
Sulfosäureester :	Alkylsulfonsäureester des	(18)
	Phenols/Kresols (Mesamoll)	
Thiodibutyrate :	Thiodibuttersäureäthylhexylester	(2)

Die Untersuchungen lassen sich in 3 Abschnitte gliedern:

1. Analytik der chemisch unveränderten Weichmacher
2. und 3. Analytik der Alkohole und Säuren, die durch Verseifung von Esterweichmachern entstehen.

Die Trennung und Identifizierung der chemisch unveränderten Weichmacher:

Zunächst wurden 5 in der Literatur beschriebene dünn-schichtchromatographische Methoden zur Trennung der 18 Testweichmacher angewandt.

Anschließend wurde versucht, durch Änderung der Versuchsanordnung den Trenneffekt zu verbessern.

Die Dünn-schichtchromatographie der Weichmacher nach Peereboom (123), Braun (124) und Diemair-Goeckel (104):

Die Anwendung der von den genannten Autoren angegebenen Fließmittel auf die Trennung der Weichmacher 1 - 18 zeigen die Abb. 1 - 5.

Aus diesen Abbildungen ist zu ersehen, daß durch keine der Methoden eine vollständige Trennung der 18 Weichmacher erreicht werden kann. Das beste Ergebnis wurde mit dem Fließmittel Dibutyläther / Hexan 20 % erzielt, wobei die Mischung aus 18 Weichmachern in 9 Substanzen getrennt wurde. Das Fließmittel Isooctan / Essigester 10 % dagegen zeigte den geringsten Trenneffekt: Es wurden auf dem Chromatogramm nur 5 Substanzflecken erhalten.

Gruppen von Weichmachern, die durch ein Fließmittel nicht getrennt werden können, kann man häufig durch Anwendung eines anderen Fließmittels doch noch trennen.

So läßt sich z. B. Trichloräthylphosphat von Dimethoxyäthylphthalat nicht durch die Fließmittel A, B, C und E trennen, wohl aber durch das Fließmittel D.

Welches der 5 Fließmittel im speziellen Fall am besten angewandt wird, läßt sich aus Tab. 10 entnehmen, wo für jedes Weichmacherpaar die Fließmittel angegeben wurden, mit deren Hilfe eine Trennung möglich ist.

Abb. 1 (A)

Trennung von WM (123)

Kieselgel G

n-Dibutyläther :

Hexan = 80 : 20

Berberinsulfat

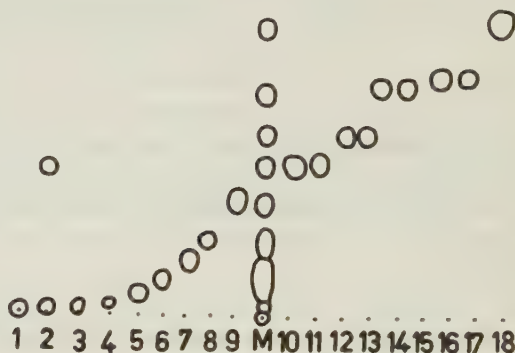


Abb. 2 (B)

Trennung von WM (123)

Kieselgel G

Benzol : Essigester =

95 : 5

Berberinsulfat

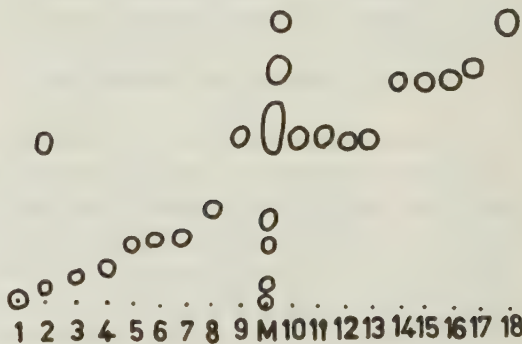


Abb. 3 (C)

Trennung von WM (123)

Kieselgel G

Isooctan : Essigester

= 90 : 10

Berberinsulfat

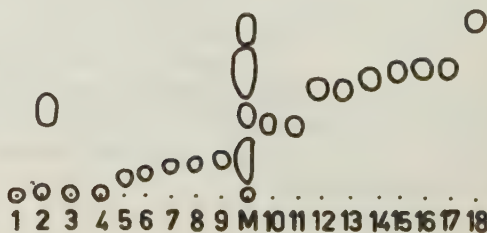


Abb. 4 (D)

Trennung von WM (124)

Kieselgel G

Methylenchlorid

Berberinsulfat



Abb. 5 (E)

Trennung von WM (104)

Kieselgel G

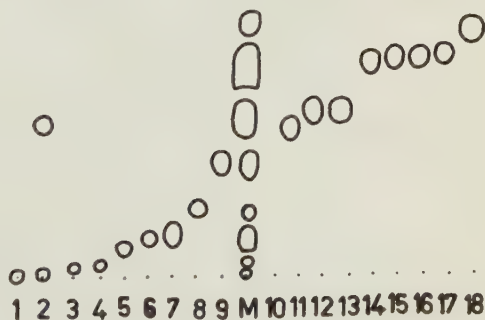
Tetrachlorkohlen-

stoff : Cyclohexan :

Benzol : Äther =

25 : 7 : 15 : 3

Berberinsulfat



Fließmittel A	= n-Dibutyläther	: Hexan	= 80 : 20
"	B = Benzol	: Essigester	= 95 : 5
"	C = Isooctan	: Essigester	= 90 : 10
"	D = Methylenchlorid		
"	E = Tetrachlorkohlenstoff	: Cyclohexan : Benzol :	
	Äther		= 25 : 7 : 15 : 3

Folgende Weichmachergruppen können - wie aus Tab. 10 ersichtlich - durch keins der 5 Fließmittel getrennt werden:

1. Glycerintriacetat, Dibutoxyäthylphthalat und Tributylcitrat
2. Thiodibuttersäureäthylhexylester, Dibutyl- und Diisobutylphthalat
3. Diäthylhexyl- und Dinonyladipat
4. Diäthylhexyl-, Dinonyl- und Didecylphthalat

Um auch derartige "kritische" Weichmacherpaare und -gruppen voneinander zu trennen und um den Trenneffekt bei solchen Weichmachern zu verbessern, die mit den angegebenen Fließmitteln zwar getrennt werden, aber nur sehr geringe R_F -Wertunterschiede aufweisen (z.B. Trichloräthylphosphat und Methoxyäthylphthalat), wurden die Versuchsbedingungen geändert. Außerdem ist es zur Identifizierung einer Substanz mit Hilfe der Chromatographie wichtig, daß möglichst verschiedene chromatographische Systeme angewandt werden. Denn Substanzen, die bei Anwendung einer chromatographischen Methode den gleichen R_F -Wert aufweisen und somit identisch zu sein scheinen, können erst dann als identisch bezeichnet werden, wenn sie in anderen, möglichst verschiedenartigen chromatographischen Systemen ebenfalls die gleichen R_F -Werte besitzen.

Die dünnschichtchromatographischen Weichmachertrennungen von Peereboom, Braun und Diemair-Goeckel ähneln sich in der Methodik: Die Dünnschichtchromatographie wird in Form der Adsorptionschromatographie auf Kieselgelschichten ausgeführt, die Richtung des Fließmittels ist aufsteigend und es wird einmal entwickelt.

Zur Verbesserung des Trenneffektes wurden die Mehrfachentwicklung, die horizontale Entwicklung und die Verteilungschromatographie angewandt.

Mehrfachentwicklung: Liegen die zu trennenden Substanzen nach dem üblichen einmaligen Durchlauf des Fließmittels im R_F -Bereich unter 0,5 und zeigen Ansätze zu einer Trennung, so kann man entweder zur Durchlaufchromatographie übergehen, oder man stellt nach dem Abdampfen des Fließmittels das Chromatogramm nochmals in die Kammer. (149)

Die Bedingungen für den durch Mehrfachentwicklung erreichbaren Trenneffekt zweier Substanzen untersuchten Chakratorthy und Burma (151):

Bei 2 Substanzen mit den R_F -Werten R_{F1} und R_{F2} ergibt sich nach zweifacher Entwicklung die Beziehung:

$(d'_2 - d'_1) = (d_2 - d_1) = (d_2 - d_1) (1 - R_{F1} + R_{F2})$, wobei d_1 und d_2 (bzw. d'_1 und d'_2) die vom Startpunkt aus zurückgelegten Entfernungen beider Substanzen nach der ersten (bzw. zweiten) Entwicklung bedeuten.

Da $d_2 > d_1$, nimmt hiernach der Trenneffekt während der zweiten Entwicklung zu, wenn $(R_{F1} + R_{F2}) < 1$, er nimmt ab, wenn $(R_{F1} + R_{F2}) > 1$, und er bleibt gleich, wenn $(R_{F1} + R_{F2}) = 1$ ist.

Bei Anwendung der Gleichung auf Rundchromatogramme, tritt an Stelle von R_{F1} und R_{F2} : d_1/D bzw. d_2/D (D bedeutet die Strecke zwischen Lösungsmittelfront und Startpunkt), wodurch ihre Gültigkeit erhalten bleibt.

Die Mehrfachentwicklung wurde bei Chromatogrammen angewandt, die nach Braun (124) mit Methylenchlorid aufsteigend entwickelt worden waren.

Die erhaltenen Chromatogramme nach zwei-, drei- und viermaligem Entwickeln zeigen die Abb. 6, 7 und 8.

Im Vergleich mit Chromatogrammen, die einmal mit Methylenchlorid entwickelt wurden (Abb. 4) ist deutlich zu ersehen, daß der Trenneffekt gesteigert werden konnte: Die Substanzmischung, die sich nach einmaligem Entwickeln in 8 Bestandteile getrennt hatte, trennte sich nach viermaligem Entwickeln in 12 Bestandteile.

Wie zu erwarten war, erfolgte die Verbesserung des Trenneffektes besonders unter den Weichmachern mit niedrigen R_F -Werten (Weichmacher Nr. 1 - 8), die auf einem weiteren Chromatogramm nochmals paarweise chromatographiert wurden. (Abb. 9) Nur Trichloräthylphosphat und Butoxyäthylphthalat konnten nicht voneinander getrennt werden.

Abb. 6

Trennung von WM

Kieselgel G

Methylenchlorid

2mal entwickelt

Berberinsulfat



Abb. 7

Trennung von WM

Kieselgel G

Methylenchlorid

3mal entwickelt

Berberinsulfat



Abb. 8

Trennung von WM

Kieselgel G

Methylenchlorid

4mal entwickelt

Berberinsulfat

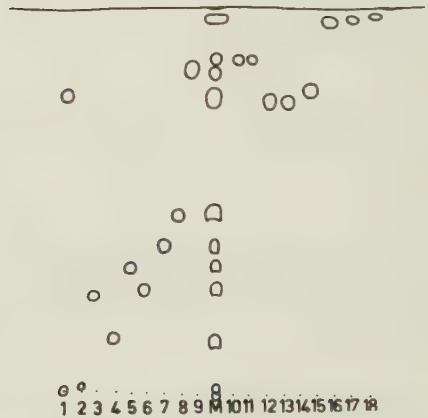


Abb. 9

Trennung der WM

mit niedrigen

R_F-Werten

Kieselgel G

Methylenchlorid

4mal entwickelt

Berberinsulfat

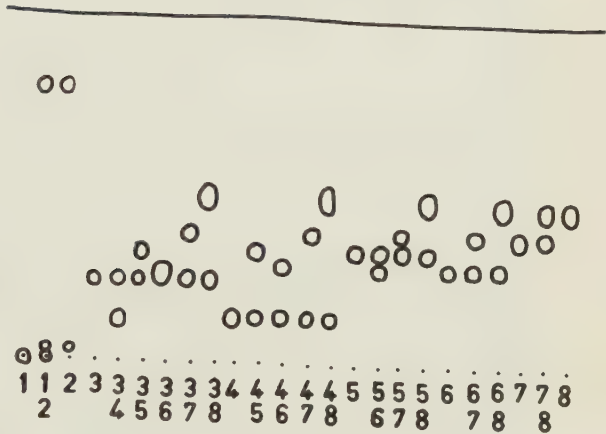


Abb. 10

Trennung von WM

Kieselgel G

Methylenchlorid :

Hexan = 1 : 1

4mal entwickelt

Berberinsulfat



Zwischen R_F -Werten, die nach einmaligem Lauf des Fließmittels erhalten werden und solchen R_F -Werten nach wiederholtem Entwickeln im n-ten Lauf besteht eine mathematisch erfaßbare Abhängigkeit.

Jeannes und Mitarbeiter befaßten sich mit dieser Abhängigkeit bei Papierchromatogrammen und leiteten folgende Beziehung ab: (152)

$$R_{F\ n} = 1 - (1 - R_{F\ 1})^n$$

Um festzustellen, ob diese Beziehung auch bei Dünnschichtchromatogrammen Gültigkeit besitzt, wurden 9 Chromatogramme je viermal mit Methylenchlorid entwickelt.

Aus den gefundenen R_F -Werten wurde der Mittelwert berechnet und zu seiner Beurteilung die durchschnittliche Abweichung (Fehler) der Einzelwerte f_d und die durchschnittliche Abweichung (Fehler) des Mittelwertes herangezogen.

Dann wurde aus den mittleren R_F -Werten, die nach einmaligem Entwickeln der Chromatogramme gewonnen worden waren, an Hand der Formel von Jeannes die zu erwartenden R_F -Werte nach zwei-, drei- und viermaligem Entwickeln berechnet. In Tab. 11 sind die analytisch ermittelten mittleren R_F -Werte den rechnerisch ermittelten gegenübergestellt.

Aus dieser Gegenüberstellung ist zu ersehen, daß zwischen beiden Werten praktisch keine Unterschiede bestehen. Die Abweichung der rechnerisch ermittelten R_F -Werte von den analytisch bestimmten mittleren R_F -Werten ist in jedem Fall geringer, als die durchschnittliche Abweichung der Einzelwerte (f_d) vom Mittelwert beträgt.

Um die Mehrfachentwicklung auch auf die Weichmacher 2 und 9 - 18 anwenden zu können, wurden sie mit einem weniger polaren Fließmittel entwickelt (Methylenchlorid : Hexan = 1 : 1), wodurch die R_F -Werte verkleinert wurden; denn nach den Ausführungen von Chakrathory und Burma (151) kann die Mehrfachentwicklung nur dann sinnvoll angewandt werden, wenn die R_F -Werte der zu trennenden Substanzen unterhalb von 0,5 liegen.

Tab. 11

R_F-Werte von Weichmachern

Weich- macher	R _F 1			R _F 2			
	a)			a)			b)
	$\bar{u}$	F _D	f _d	$\bar{u}$	F _D	f _d	
1	0,00	± 0,00	0,00	0,00	± 0,00	0,00	0,00
2	0,37	± 0,02	0,06	0,56	± 0,03	0,09	0,60
3	0,08	± 0,00	0,01	0,18	± 0,01	0,02	0,16
4	0,04	± 0,00	0,01	0,08	± 0,01	0,02	0,08
5	0,11	± 0,00	0,01	0,21	± 0,01	0,02	0,21
6	0,10	± 0,01	0,02	0,19	± 0,01	0,02	0,19
7	0,14	± 0,01	0,03	0,26	± 0,01	0,02	0,26
8	0,18	± 0,01	0,04	0,29	± 0,02	0,05	0,33
9	0,42	± 0,02	0,06	0,68	± 0,02	0,05	0,66
10	0,46	± 0,02	0,07	0,74	± 0,02	0,06	0,71
11	0,46	± 0,02	0,07	0,73	± 0,02	0,06	0,71
12	0,34	± 0,02	0,06	0,60	± 0,02	0,06	0,57
13	0,35	± 0,02	0,06	0,61	± 0,02	0,06	0,58
14	0,37	± 0,02	0,07	0,64	± 0,02	0,07	0,60
15	0,67	± 0,02	0,07	0,93	± 0,03	0,08	0,89
16	0,66	± 0,02	0,07	0,92	± 0,03	0,08	0,88
17	0,66	± 0,02	0,07	0,92	± 0,03	0,08	0,88
18	0,85	± 0,02	0,07	0,99	± 0,02	0,05	0,98

a) analytisch ermittelt (Kieselgel G, Methylenchlorid, 1 - 4mal aufsteigend entwickelt)

b) rechnerisch ermittelt ($R_{Fn} = 1 - (1 - R_{F1})^n$)

Tab. 11 (Fortsetzung)

R_F-Werte von Weichmachern

Weich- macher	R _F 3				R _F 4			
	a)			b)	a)			b)
	$\bar{u}$	F_D	f_d		$\bar{u}$	F_D	f_d	
1	0,00	± 0,00	0,00	0,00	0,00	± 0,00	0,00	0,00
2	0,69	± 0,04	0,11	0,75	0,77	± 0,04	0,11	0,85
3	0,21	± 0,01	0,02	0,23	0,25	± 0,02	0,05	0,28
4	0,12	± 0,01	0,02	0,12	0,14	± 0,01	0,03	0,15
5	0,26	± 0,02	0,05	0,30	0,33	± 0,02	0,05	0,38
6	0,24	± 0,02	0,05	0,28	0,28	± 0,02	0,05	0,35
7	0,31	± 0,03	0,08	0,37	0,38	± 0,03	0,08	0,45
8	0,38	± 0,03	0,09	0,45	0,47	± 0,03	0,09	0,55
9	0,78	± 0,03	0,08	0,81	0,84	± 0,03	0,10	0,89
10	0,82	± 0,03	0,08	0,84	0,87	± 0,03	0,09	0,92
11	0,81	± 0,03	0,08	0,84	0,86	± 0,03	0,09	0,92
12	0,70	± 0,03	0,08	0,71	0,76	± 0,02	0,07	0,81
13	0,70	± 0,03	0,08	0,73	0,76	± 0,03	0,08	0,82
14	0,72	± 0,03	0,08	0,75	0,78	± 0,03	0,08	0,84
15	0,94	± 0,02	0,06	0,97	0,96	± 0,01	0,04	0,98
16	0,93	± 0,02	0,06	0,96	0,96	± 0,01	0,03	0,97
17	0,93	± 0,02	0,06	0,96	0,96	± 0,01	0,04	0,97
18	0,99	± 0,01	0,03	1,00	1,00	± 0,01	0,01	1,00

a) analytisch ermittelt (Kieselgel G, Methylenchlorid, 1 - 4mal aufsteigend entwickelt)

b) rechnerisch ermittelt ($R_{Fn} = 1 - (1 - R_{F1})^n$)

Bei einer viermaligen Entwicklung mit Methylenchlorid-Hexan konnte jedoch bei den Weichmachern 2 und 9 - 18 keine Erhöhung des Trenneffektes erreicht werden (s. Abb. 10). Im Gegenteil, die viermalige Entwicklung mit Methylenchlorid lieferte weitaus bessere Ergebnisse.

Die Weichmacher 1 und 3 - 8 liefen beim Chromatographieren mit Methylenchlorid-Hexan nur sehr wenig.

Ringchromatographie: Der Ringchromatographie liegt eine horizontale Entwicklungsweise zugrunde. Die ringförmige Anordnung der Substanzzonen liefert schärfere Trennungen als bei aufsteigender Arbeitsweise. Daher eignet sich diese Methode besonders zur Trennung von Substanzen mit nahe beieinanderliegenden R_F -Werten. Ein weiterer Vorteil ist die große Analysengeschwindigkeit: Die Entwicklung eines Ring-Dünnschichtchromatogramms dauerte etwa 1/4 Stunde. Außerdem besteht die Möglichkeit, größere Substanzmengen (bis zu einigen mg) aufzutrennen. Der besondere Nachteil der Ringchromatographie liegt darin, daß keine Vergleichssubstanzen mitchromatographiert werden können (siehe aber Zirkular-Technik S. 66 ff.).

Stahl und Randerath (149, 153) beschreiben zwei Verfahren zur Herstellung von Ring-Dünnschichtchromatogrammen. Es wurde folgende abgeänderte Methode verwandt:

Die nach Vorschrift hergestellten Kieselgel-G-Platten wurden mit einer Glasscheibe bedeckt, die in der Mitte durchbohrt war. Zwischen Kieselgel-G-Platte und Glasscheibe befand sich ein Gummiring als Dichtung und zur Einhaltung von Abstand.

In das Loch der durchbohrten Glasscheibe wurde eine passende Pipette eingesetzt, die in ihrer Spitze einen Docht aus gedrehtem Filtrierpapier enthielt.

Die zu chromatographierenden Substanzen wurden in Form ihrer Lösung in Tetrachlorkohlenstoff, mit einem Gehalt von 10 - 20% pro Weichmacher, auf den Filtrierpapierdocht aufgebracht, und zwar auf derjenigen Seite des Dochtes, die nach Einsetzen der Pipette mit der Kieselgelschicht in Berührung kam.

Anschließend wurde von oben her Fließmittel in die Pipette gefüllt, wodurch die Substanzen vom Filtrierpapierdocht auf die Kieselgelschicht gespült wurden.

Als Fließmittel wurde abermals Methylenchlorid verwandt. Ein auf diese Weise hergestelltes Chromatogramm zeigt Abb. 11.

Bei der Bestimmung von R_F -Werten von Ringchromatogrammen ist grundsätzlich zu beachten, daß diese sich von R_F -Werten, die bei auf- oder absteigender Arbeitsweise erhalten werden, unterscheiden. Le Strange und Müller (154) leiteten ab, daß R_F -Werte von auf- oder absteigend entwickelten Papierchromatogrammen dem Quadrat der bei der Rundfilterchromatographie erhaltenen R_F -Werte gleich sind:

$$R_F = R_R^2$$

Ganguli (155) bestätigte diese Beziehung an reicherem experimentellen Material.

In Tab. 12 findet sich eine Gegenüberstellung von R_F -Werten, die nach dieser Formel errechnet wurden und solchen, die aus 9 Ring-Dünnschichtchromatogrammen ermittelt wurden. Beide Werte stimmten gut miteinander überein. Die Formel von Le Strange und Müller besitzt also auch für Dünnschichtchromatogramme Gültigkeit.

Tab. 12 R_F -Werte von Weichmachern (Kieselgel G/Methylenchlorid)

Weichmacher	Aufsteigende Chromatographie	Ringchromatographie			rechnerisch
		analytisch $\bar{u}$	F_D	f_d	
1	0,00	0,00	+	0,00	0,00
2	0,37	0,61	+	0,01	0,61
3	0,08	0,27	+	0,01	0,28
4	0,04	0,20	+	0,00	0,20
5	0,11	0,35	+	0,01	0,33
6	0,10	0,33	+	0,01	0,32
7	0,14	0,37	+	0,01	0,38
8	0,18	0,41	+	0,02	0,43
9	0,42	0,63	+	0,03	0,65
10	0,46	0,65	+	0,03	0,68
11	0,46	0,65	+	0,03	0,68
12	0,34	0,54	+	0,02	0,58
13	0,35	0,54	+	0,02	0,59
14	0,37	0,59	+	0,03	0,61
15	0,67	0,84	+	0,03	0,82
16	0,66	0,83	+	0,03	0,81
17	0,66	0,83	+	0,03	0,81
18	0,85	0,94	+	0,02	0,92

Abb. 11

Trennung von WM

Kieselgel G

Methylenchlorid

Kaliumpermanganat-

Schwefelsäure

Reihenfolge von außen nach innen

Front
 WM Nr. 18
 WM Nr. 15,16,17
 WM Nr. 10,11
 WM Nr. 9
 WM Nr. 2
 WM Nr. 14
 WM Nr. 12,13
 WM Nr. 8
 WM Nr. 7
 WM Nr. 5
 WM Nr. 6
 WM Nr. 3
 WM Nr. 4
 WM Nr. 1

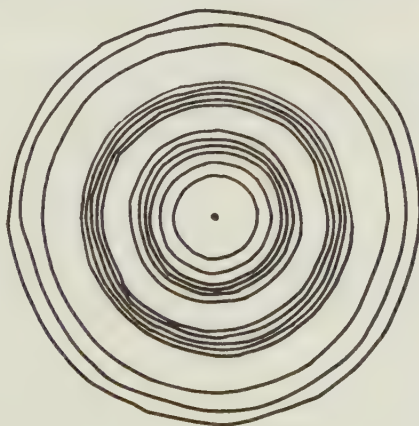


Abb. 12

Trennung der WM

Nr. 15, 16, 17

Kieselgel G

Benzol

3mal entwickelt

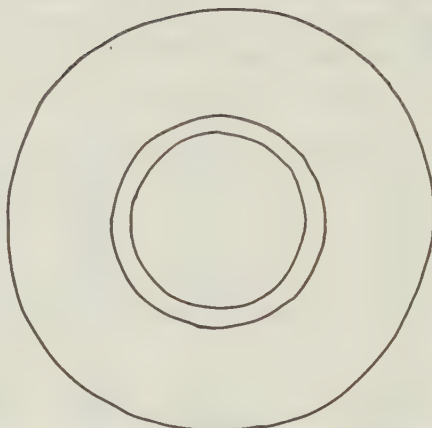
Kaliumpermanganat-Schwefelsäure

Reihenfolge von außen nach innen

Front

WM Nr. 15

WM Nr. 16, 17



Bei der Ring-Dünnschichtchromatographie mit Methylenchlorid nicht trennbar waren die Weichmachergruppen

Butyl- und Isobutylphthalat

Äthylhexyl- und Nonyladipat

Äthylhexyl-, Nonyl- und Decylphthalat.

Eine weitere Auftrennung innerhalb der letzten Gruppe konnte durch Ring-Dünnschichtchromatographie mit Benzol als Fließmittel unter Anwendung der Mehrfachentwicklung erreicht werden.

Nach zweimaligem Entwickeln waren andeutungsweise zwei Substanzzonen auf dem Chromatogramm zu sehen, die sich nach dem 3. Entwickeln deutlich voneinander getrennt hatten. (Abb. 12)

Der Ring mit dem niedrigeren R_F -Wert bestand aus Äthylhexyl- und Nonylphthalat, der mit dem höheren R_F -Wert aus Decylphthalat, wie an Hand von Chromatogrammen, die mit jedem der drei Weichmacher einzeln hergestellt wurden, festgestellt werden konnte.

Um auch die Möglichkeit zu haben, bei horizontaler Entwicklungsweise Vergleichssubstanzen mitchromatographieren zu können, wurden Zirkular-Dünnschichtchromatogramme angefertigt: Je 10% der einzel-

nen Substanzen wurde in radialer Anordnung um den Mittelpunkt der Kieselgelplatte, im Abstand von 1 cm, aufgetragen und ansonsten in gleicher Weise chromatographiert wie bei den Ringchromatogrammen.

Bei dieser Versuchsanordnung konnte keine Verbesserung des Trenneffektes gegenüber der aufsteigenden Arbeitsweise erhalten werden, weder bei ein- bis viermaligem Entwickeln mit Methylenchlorid, noch bei ein- bis viermaligem Entwickeln mit Benzol.

Verteilungschromatographie: Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie, die zunächst eine rein adsorptionschromatographische Methode war, kann man ebenso gut verteilungschromatographische Trennungen ausführen, wodurch der Anwendungsbereich der Dünnschichtchromatographie stark erweitert wird.

Adsorptionschromatographie wird angewendet, wenn Substanzen voneinander getrennt werden sollen, die Unterschiede in der Art und Anordnung polarer Substituenten aufweisen (153), während Unterschiede in der Molekülgröße bei der Trennung von Substanzen durch Verteilungschromatographie eine Rolle spielen.

Bei der Adsorptionschromatographie werden die zu trennenden Substanzen an der Oberfläche einer festen Phase - dem Adsorbens - auf Grund von zwischenmolekularen Kräften festgehalten. Mit Hilfe des Elutionsmittels werden die adsorbierten Moleküle je nach Adsorptionsstärke mehr oder minder stark vom Adsorbens abgelöst. Dabei stellt sich ein stetiges Gleichgewicht ein zwischen den an der festen Phase adsorbierten Molekülen und jenen, welche im Elutionsmittel gelöst sind. Als Elutionsmittel kommen Flüssigkeiten (z.B. bei der Dünnschichtchromatographie) und Gase (Gas-Adsorptions-Chromatographie) in Frage.

Die Separationsfunktion bei der Adsorptionschromatographie ist die Adsorptionsisotherme. Diese verläuft in den überwiegenden Fällen nicht linear, sondern parabelartig. Deshalb pflegen in der Regel

die Substanzflecken auf Adsorptionschromatogrammen dadurch typisch zu sein, daß ein Rand (meist der vordere) scharf und der zweite diffus verwaschen ist. Außerdem hängt die relative Lage des Konzentrationsschwerpunktes der Flecken stark von der Substanzmenge ab. (156) Auf die Abhängigkeit des R_F -Wertes bei Weichmachern von der angewandten Substanzmenge weisen Diemair-Goeckel (104) und Braun (124) hin.

Peereboom (123), Braun (124) und Diemair-Goeckel (104) nehmen zur adsorptionschromatographischen Trennung der Weichmacher, welche wenig polare Substanzen sind, ein aktives Sorptionsmittel und Fließmittel bzw. Fließmittelmischungen mit geringer Elutionswirkung.

Die Verteilungschromatographie beruht demgegenüber auf dem gleichen Prinzip wie die Extraktionsanalyse: Eine Trennung wird ermöglicht durch die verschiedene Löslichkeit der Substanzen in zwei miteinander nicht (vollständig) mischbaren Lösungsmitteln. Das eine Lösungsmittel befindet sich in den Poren eines festen Trägerstoffes und ist unbeweglich (stationär), während das andere beweglich (mobil) ist und über die stationäre Phase fließt. Die Trennung geht also im System flüssig-flüssig vor sich. Die Art des Trägers spielt eine untergeordnete Rolle.

Eine bekannte verteilungschromatographische Methode ist die Papierchromatographie. Auch bei der Verteilungschromatographie kommen zwischenmolekulare Kräfte von überwiegend elektrostatischem Charakter zur Geltung. (156)

Bei der Verteilungschromatographie gilt der Nernstsche Verteilungssatz:

$$c_1 : c_2 = \text{konst.} = \alpha$$

Der Verteilungskoeffizient α ist im Idealfall unabhängig von der Konzentration in den beiden Phasen (stationär / mobil). Deshalb erhält man bei der Verteilungschromatographie im Idealfall symmetrische Flecken und ihre Lage ist unabhängig von der Substanzkonzentration. Abweichungen vom Idealverhalten sind häufig.

Die Auswahl des Lösungsmittelsystems bei der Verteilungschromatographie richtet sich nach den zu chromatographierenden Substanzen. (156)

1. Bei der Trennung hydrophiler Substanzen wird im allgemeinen Wasser als stationäre Phase und ein mit Wasser nicht mischbares organisches Lösungsmittel als mobile Phase verwendet.
2. Zur Trennung mittelhydrophiler Substanzen werden polare organische Lösungsmittel wie Formamid, Propylenglykol, niedrigere Alkohole u.a. an dem Trägerstoff verankert. Hat die stationäre Phase einen hohen Siedepunkt, kann man den Träger direkt mit der stationären Phase imprägnieren, indem man z.B. die beschichtete Dünnschichtplatte durch eine Lösung der stationären Phase in einem leicht flüchtigen Lösungsmittel zieht oder direkt die stationäre Phase in die Schicht einarbeitet. Trotz der hohen Siedepunkte kommt es, besonders in den ersten Stunden zu einem erheblichen Absinken der Konzentration an stationärer Phase am Träger.

Dies ist bei der Ermittlung von R_F -Werten zu beachten, da diese abhängig sind vom Imprägnierungsgrad. (156) Bei der Verankerung flüchtiger Lösungsmittel (z.B. Methanol) nimmt die Trägersubstanz die stationäre Phase aus der Kammeratmosphäre auf.

In beiden Fällen dient ein mit der stationären Phase unmischbares Lösungsmittel zur Entwicklung: die Laufmittel von Chloroform bis Petroläther in der elutropen Reihe von Trappe. (157)

3. Für die Chromatographie hydrophober Substanzen muß ein dritter Systemtyp mit sogenannten umgekehrten Phasen benutzt werden: Am Träger ist ein wenig flüchtiges, hydro-

phobes Lösungsmittel verankert und als mobile Phase wird ein hydrophiles Lösungsmittel verwandt.

Bei den folgenden verteilungschromatographischen Weichmachertrennungen auf Dünnschichtplatten wurden Lösungsmittelsysteme der Gruppen 2 und 3 verwandt.

Als Trägersubstanz erwies sich Kieselgur G "Merck" als am geeignetsten. Bei Kieselgel G "Merck" überlagerten Adsorptionseffekte die verteilungschromatographischen Trennungen, und bei der Anwendung von Acetylcellulose - MN 300 G/Ac der Firma Macherey & Nagel (158) - konnten trotz Verwendung verschiedenster Fließmittel keine befriedigenden Trennungen erhalten werden: in den meisten Fällen neigten die Substanzen auf dem Chromatogramm stark zur Schwanzbildung. Eine Übersicht über die getesteten Lösungsmittelsysteme bei Anwendung von Acetylcellulose als Träger gibt Tab. 13.

Tab. 13 Getestete Lösungsmittelsysteme zur Verteilungschromatographie auf Acetylcellulose

Fließmittelsysteme	Lage der Subst. auf d. Chromatogramm
Äthylacetat : Tetrahydrofuran : Wasser = 0,6:3,5:4,7	Nahe Start
" " " = 0,5:3,5:4,0	"
" " " = 0,5:3,5:3,0	Mitte
" " " = 0,5:3,5:2,0	"
" " " = 0,5:3,5:1,0	Nahe Front
" " " = 0,5:3,5:0,0	"
Äthylacetat : Dioxan : Wasser = 2,0:4,5:4,6	Nahe Start
Methanol : Aceton : Wasser = 4,0:4,0:0,0	Nahe Front
" " " = 4,0:4,0:0,5	"
" " " = 4,0:4,0:1,0	"
Methanol : Hexan = 2,0:1,0	"
" " = 20,0:15,0	"
" " = 1,0:10,0	"

Zur Ausführung der Dünnschicht-Verteilungschromatographie auf Kieselgurplatten, wurden die Platten mit einer Suspension von 1 Gewichtsteil Kieselgur G "Merck" in 2 Volumenteilen destilliertem Wasser bestrichen und nach dem Abbinden 30 Minuten bei 80°C getrocknet. Die beschichteten und getrockneten Platten brauchten nicht über einem Trockenmittel oder unter Vakuum aufbewahrt zu werden. Sie konnten noch nach mehrtägigem Stehenlassen an der Laborluft verwendet werden. Zur Verteilungschromatographie der Weichmacher wurden folgende drei Gruppen von Lösungsmitteln als stationäre Phase verwandt:

1. Polare organische Lösungsmittel mit niedrigem Siedepunkt
2. Polare organische Lösungsmittel mit höherem Siedepunkt
3. Hydrophobe, wenig flüchtige Lösungsmittel

Dünnschicht-Verteilungschromatographie von Weichmachern mit polaren organischen Lösungsmitteln von niedrigem Siedepunkt als stationärer Phase:

Je 10% der Weichmacher wurden auf die mit Kieselgur G beschichteten Platten aufgetragen und die Platten mehrere Stunden (über Nacht) in Trennkammern gestellt, deren Atmosphäre mit den Dämpfen desjenigen Lösungsmittelsystems gesättigt war, welches zur Trennung herangezogen wurde. Zur Herstellung des Lösungsmittelsystems wurden die polare und die apolare Phase durch Schütteln gegeneinander abgesättigt. Beide Phasen dienten zur Sättigung der Kammeratmosphäre, die apolare weiterhin zum Entwickeln des Chromatogramms.

Folgende Lösungsmittelsysteme wurden auf ihre Eignung zur Dünnschicht-Verteilungschromatographie von Weichmachern untersucht:

Tab. 14

Getestete Lösungsmittelsysteme zur
Verteilungschromatographie

1. a) Methanol	/ Hexan
b) " + 2 % Wasser	/ "
c) " + 2 % Wasser	/ Heptan
d) " + 2 % Wasser	/ "
e) " + 2 % Wasser	/ Petroleumbenzin (100° - 140°C)
f) " + 2 % Wasser	/ "
2. Äthanol + 2 % Wasser	/ "
3. Isopropanol + 2 % Wasser	/ "
4. Nitromethan + 2 % Wasser	/ "
5. Acetonitril + 2 % Wasser	/ "
6. Eisessig + 2 % Wasser	/ "
7. Ameisensäure + 2 % Wasser	/ "

Sämtliche der genannten Lösungsmittelsysteme wiesen einen Trenneffekt auf für die Weichmacher Nr. 1, 3, 4 - 7 und 9 - 10, während die anderen Weichmacher mit der Lösungsmittelfront liefen.

Die Weichmacher Nr. 1, 3, 4 - 7 und 9 - 10 sind weniger hydrophob als die übrigen, daher sind sie auch zum Teil in geringem Maße löslich in Wasser.

Als Maß für die Hydrophobität kann nach Hais-Macek (156) bei Verbindungen, die nur aus Kohlenstoff, Sauerstoff und Wasserstoff bestehen, das Verhältnis von Kohlenstoffatomen zu Sauerstoffatomen herangezogen werden. Dies liegt bei den weniger hydrophoben Weichmachern im allgemeinen unter 4, bei den hydrophoberen Weichmachern über 4. (s. Tab. 15)

Tab. 15

Hydrophilie der Weichmacher

Weichmacher	C : O	Löslichkeit in Wasser (17)
1. Polyadipat	-	unlöslich
3. Trichloräthylphosphat	-	0,05 % (20°C)
4. Methoxyäthylphthalat	2,33	0,8 % "

Tab. 15 (Fortsetzung)

Hydrophilie der Weichmacher

Weichmacher	C : O	Löslichkeit in Wasser (17)
5. Glycerintriacetat	1,5	6,0 - 7,0 % (20°C)
6. Butoxyäthylphthalat	2,83	0,1 % "
7. Tributylcitrat	2,57	0,002 % "
9. Trikresylphosphat	-	unter 0,002 % (85°C)
10. Butylphthalat	4,0	0,1 % (20°C)
11. Isobutylphthalat	4,0	0,1 % "
2. Thiodibuttersäureäthylhexyl- ester	-	?
8. Triäthylhexylphosphat	-	unlöslich
12. Nonyladipat	6,0	"
13. Äthylhexyladipat	5,5	"
14. Acetyltriäthylhexylcitrat	4,0	"
15. Decylphthalat	7,0	"
16. Nonylphthalat	6,5	"
17. Äthylhexylphthalat	6,0	"
18. Mesamoll	-	"

Bei der Verteilung zwischen 2 Phasen wird der Trenneffekt erhöht, wenn die Mischbarkeit der beiden Phasen miteinander herabgesetzt wird. (159)

Dies kann man auf verschiedene Art und Weise erreichen:

1. Durch Zusatz von Wasser zur polaren Phase.
2. Indem man als apolare Phase ein möglichst hydrophobes Lösungsmittel verwendet, also einen möglichst langkettigen Kohlenwasserstoff.
3. Indem man bei tiefen Temperaturen arbeitet.

Die Wirkung der 3 genannten Methoden auf den Trenneffekt bei der Dünnschicht-Verteilungschromatographie wurde mit Methanol als sta-

tionärer Phase getestet:

Beim Übergang von Hexan über Heptan zu Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C) als mobile Phase zeigte sich eine eindeutige Verbesserung des Trenneffektes.

Auch ein Zusatz von 2 % Wasser zur polaren Phase erwies sich als vorteilhaft, während Chromatographie bei - 3°C ohne sichtbaren Effekt blieb.

Am besten geeignet von den getesteten Fließmittelsystemen waren Methanol + 2 % Wasser / Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C) und Acetonitril + 2 % Wasser / Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C). Die entsprechenden Chromatogramme zeigen die Abb. 13 und 14. Eisessig und Ameisensäure griffen die Kieselgurschicht sehr stark an, so daß der Nachweis der Substanzen erschwert wurde. Bei der Verwendung von Äthanol und Isopropanol waren die R_F -Werte schon zu hoch, um für eine Trennung oder Identifizierung herangezogen werden zu können.

Eine Zusammenstellung der R_F -Werte der Weichmacher Nr. 1, 3, 4 - 7 und 9 - 11 bei Verwendung von Methanol + 2 % Wasser, bzw. Acetonitril + 2 % Wasser als stationäre und Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C) als mobile Phase gibt Tab. 16.

Die mittleren R_F -Werte wurden aus jeweils 9 Chromatogrammen errechnet, die unter den gleichen Versuchsbedingungen hergestellt worden waren.

Tab. 16

R_F-Werte von Weichmachern

Weichmacher	Methanol + 2 % Wasser / Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C)			Acetonitril + 2 % Wasser / Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C)		
	$\bar{u}$	F_D	f_d	$\bar{u}$	F_D	f_d
1	0,00	$\pm$ 0,00	0,00	0,00	$\pm$ 0,00	0,00
3	0,23	$\pm$ 0,01	0,04	0,04	$\pm$ 0,00	0,01
4	0,39	$\pm$ 0,01	0,04	0,14	$\pm$ 0,01	0,02
5	0,34	$\pm$ 0,01	0,04	0,11	$\pm$ 0,01	0,02
6	0,73	$\pm$ 0,03	0,08	0,63	$\pm$ 0,03	0,08
7	0,68	$\pm$ 0,02	0,06	0,59	$\pm$ 0,03	0,08
9	0,77	$\pm$ 0,02	0,07	0,66	$\pm$ 0,03	0,09
10	0,81	$\pm$ 0,03	0,09	0,79	$\pm$ 0,03	0,08
11	0,80	$\pm$ 0,03	0,09	0,79	$\pm$ 0,03	0,08

Abb. 13

Trennung von WM

Kieselgur G

Methanol + 2 % Wasser /

Petroleumbenzin

(Kp 100 - 140°C)

Berberinsulfat

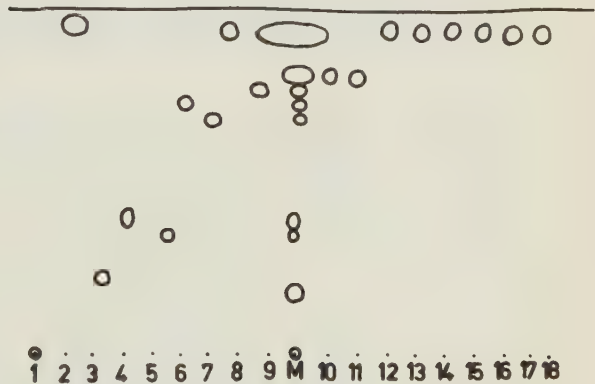


Abb. 14

Trennung von WM

Acetonitril + 2 % Wasser /

Petroleumbenzin

(Kp 100 - 140°C)

Berberinsulfat



Dünnschicht-Verteilungschromatographie mit polaren organischen Lösungsmitteln von höherem Siedepunkt als stationärer Phase:

Bei diesen Fließmittelsystemen wurde ebenfalls Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C) als mobile Phase verwandt.

Als stationäre Phase wurden folgende Verbindungen auf ihre Verwendbarkeit zu Weichmachertrennungen getestet:

Tab. 17

Getestete stationäre Phasen zur Verteilungschromatographie

1. Formamid
2. Dimethylformamid
3. Äthylenglykol
4. Diäthylenglykol
5. Triäthylenglykol
6. Polyäthylenglykol M 300
7. Polyäthylenglykol M 400
8. Polyäthylenglykol M 600
9. Polyäthylenglykol M 1000
10. Äthylenglykolmonomethyläther
11. Äthylenglykolmonopropyläther
12. Äthylenglykolmonophenyläther
13. Propylenglykol
14. 1,4 - Butandiol

Die Verankerung der polaren Phase auf den Kieselgurplatten erfolgte bei den Lösungsmitteln 1 - 5 und 10 - 14 (Tab. 17) durch Imprägnieren der beschichteten Platten. Die Polyäthylenglykole (Nr. 6 - 9) dagegen wurden direkt in die Kieselgurschicht eingearbeitet.

Zur Imprägnierung wurde die beschichtete und getrocknete Platte in eine 20 %ige Lösung der polaren Phase in Aceton gestellt und diese Lösung bis kurz unter den oberen Rand der Platte laufen gelassen. Sobald das Aceton, nach Herausnahme der Platte, verdunstet war, wurden die zu trennenden Weichmacher auf die Dünnschichtplatte aufgetragen und die Platte genau 1 h nach Herausnahme aus der Imprägnierungslösung in einer Trennkammer mit Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C), welches mit der stationären Phase gesättigt war, entwickelt.

Die Einarbeitung der Polyäthylenglykole in die Schicht erfolgte nach einer von Knappe und Peteri (142) angegebenen Methode: Für 5 Platten (20 x 20 cm) wurden 15,0 g des Polyäthylenglykols in 45 ml destilliertem Wasser, eventuell unter Erwärmen, gelöst. Aus dieser Lösung und 30,0 g Kieselgur wurde eine Suspension zum Bestreichen der Platten hergestellt.

Die nach den angegebenen Vorschriften erhaltenen Imprägnierungsgrade bewährten sich am besten. Bei Erhöhung des Imprägnierungsgrades wurden die R_F -Werte erniedrigt. Gleichzeitig lief das Fließmittel langsamer, so daß man zum Entwickeln eines Chromatogramms längere Zeit benötigte. Bei einer Verringerung des Imprägnierungsgrades wurden die R_F -Werte vergrößert.

Aus diesem Grunde müssen bei der Bestimmung von R_F -Werten die Versuchsbedingungen genau eingehalten werden. Auch dürfen imprägnierte Platten nicht längere Zeit an der Luft liegen, mit Ausnahme von solchen Platten, die mit Polyäthylenglykolen von höherem Molekulargewicht beschichtet sind, deren Dampfdruck so niedrig ist, daß sie keiner merkbaren Verdunstung unterliegen.

Von den getesteten Fließmittelsystemen zeigte das mit Formamid als stationärer Phase den geringsten Trenneffekt für Weichmacher. Alle Substanzen liefen recht hoch und wiesen nur geringe R_F -Wertunterschiede auf.

Alle anderen Fließmittelsysteme besaßen einen mehr oder minder großen Trenneffekt für die weniger hydrophoben Weichmacher (Nr. 1, 3 - 7 und 9 - 11). Die hydrophoberen Weichmacher (Nr. 2, 8 und 12 - 18) liefen ausnahmslos bis zur Lösungsmittelfront.

Eine Verringerung des R_F -Wertes wurde beobachtet, wenn vom monomeren Äthylenglykol, über das dimere und trimere Produkt zu den polymeren Äthylenglykolen bis zum Molekulargewicht von 600 übergegangen wurde. So besaß z.B. Butylphthalat im System Äthylenglykol/Petroleumbenzin (K_p 100 - 140°C) einen R_F -Wert von 0,94, im System Polyäthylenglykol M 600/Petroleumbenzin (K_p 100 - 140°C) dagegen einen R_F -Wert von 0,64. Polyäthylenglykole mit Molekulargewichten über 1000 lieferten stark "geschwänzte" Chromatogramme.

Recht gute Trennungen wurden mit Dimethylformamid, Propylenglykol, 1,4 - Butandiol und dem Methyl- bzw. Propyläther des Äthylenglykols erhalten.

Am besten bewährte sich jedoch von den getesteten polaren Phasen der Äthylenglykolmonophenyläther (Phenoxyäthanol, Phenylcellosolve).

Das System Phenoxyäthanol/Heptan wurde von Neher und Wettstein (160) zur papierchromatographischen Trennung von Steroiden eingeführt. Es bewährte sich weiterhin zur Trennung der 2,4 - Dinitrophenylhydrazone von Aldehyden und Ketonen, sowohl auf papier- (161) als auch auf dünn-schichtchromatographischem (162) Weg.

Ein Chromatogramm sämtlicher Weichmacher, nach Trennung im System Phenoxyäthanol/Petroleumbenzin (K_p 100 - 140°C), zeigt die Abb. 15, ein Chromatogramm der Weichmacher 1, 3 - 7 und 9 die Abb. 16.

Die R_F -Werte der Weichmacher 1, 3 - 7 und 9 - 11 wurden abermals

aus 9 Chromatogrammen errechnet und finden sich in Tab. 18.

Tab. 18

R_F -Werte von Weichmachern
(Phenoxyäthanol/Petroleumbenzin Kp 100 - 140°C)

Weichmacher	$\bar{u}$	F_D	f_d
1	0,00	$\pm$ 0,00	0,00
3	0,03	$\pm$ 0,00	0,00
4	0,03	$\pm$ 0,00	0,00
5	0,21	$\pm$ 0,01	0,02
6	0,17	$\pm$ 0,00	0,01
7	0,21	$\pm$ 0,01	0,02
9	0,13	$\pm$ 0,00	0,01
10	0,28	$\pm$ 0,01	0,02
11	0,28	$\pm$ 0,01	0,02

Dünnschicht-Verteilungschromatographie mit hydrophoben, wenig flüchtigen Lösungsmitteln als stationäre Phase:

Bei diesen Fließmittelsystemen ist die apolare Phase stationär und die polare Phase mobil.

Als apolare Phase wurden Paraffin, Undecan und Siliconöl verwandt. Als polare Phase dienten verschiedene hydrophile Fließmittel und Fließmittelmischungen.

Diese Systeme eigneten sich zu Trennungen innerhalb der Gruppe der hydrophoberen Weichmacher (Nr. 2, 8 und 12 - 18). Alle anderen Weichmacher liefen mit der Lösungsmittelfront. Eine Zusammenstellung der getesteten Systeme gibt Tab. 19.

Abb. 15

Trennung von WM
Phenoxyäthanol /
Petroleumbenzin
(Kp 100 - 140°C)

Rhodamin B

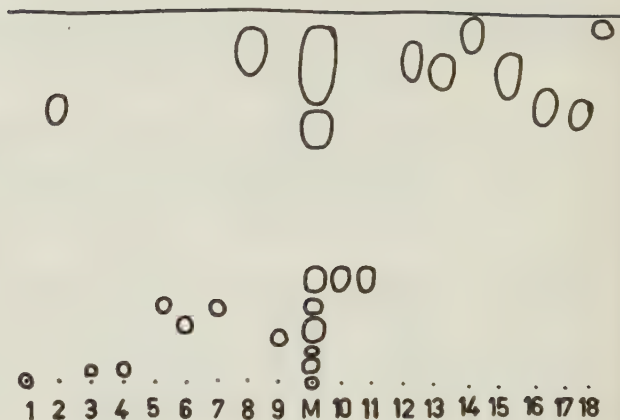
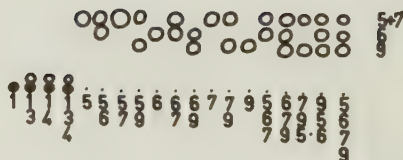


Abb. 16

Trennung der WM
Nr. 1, 3 - 2
und 9
Phenoxyäthanol /
Petroleumbenzin
(Kp 100 - 140°C)

Rhodamin B



Tab. 19

Getestete Lösungsmittelsysteme zur Verteilungschromatographie mit umgekehrten Phasen

Undecan	/	Acetonitril	
"	/	"	+ 5 % Wasser
"	/	"	+ 10 % Wasser
"	/	"	+ 20 % Wasser
"	/	Eisessig	
"	/	"	+ 10 % Wasser
"	/	"	+ 20 % Wasser
Siliconöl	/	Acetonitril	: Wasser = 4 : 1
"	/	"	: " = 6 : 1
"	/	"	: Eisessig : Wasser = 7 : 1 : 2,5
Paraffin	/	Acetonitril	
"	/	"	+ 10 % Wasser
"	/	"	+ 20 % Wasser

Gute Trennungen wurden mit Undecan und Siliconöl als stationärer Phase erhalten. Paraffin bewährte sich nicht, weil eine eindeutige Identifizierung der getrennten Weichmacher auf der Platte in Gegenwart von Paraffin sehr erschwert ist.

Die Imprägnierung der Dünnschichtplatten erfolgte nach Vorschrift von Kaufmann und Makus (163) mit Hilfe einer 15 % Lösung von Undecan "Merck" in Petroläther (Kp 40 - 60°C). Nach der Imprägnierung wurden die Weichmacher aufgetragen und genau 1 h nach Herausnahme der Platte aus der Undecanlösung wurde chromatographiert.

Die Fließmittel wurden mit Undecan gesättigt. Am geeignetsten zur Trennung der Weichmacher erwies sich Acetonitril mit Zusatz verschiedener Mengen an Wasser.

Eisessig mit 0 - 20 % Wasserzusatz als Fließmittel lief äußerst langsam und zeigte nur einen geringen Trenneffekt. Die Chromatogramme, die mit Acetonitril und Acetonitril-Wasser-Gemischen erhalten wurden, zeigen die Abb. 17, 18, 19, 20. Die größten R_F -Werte wurden, wie zu erwarten, mit reinem Acetonitril, die niedrigsten mit Acetonitril + 20 % Wasser erhalten.

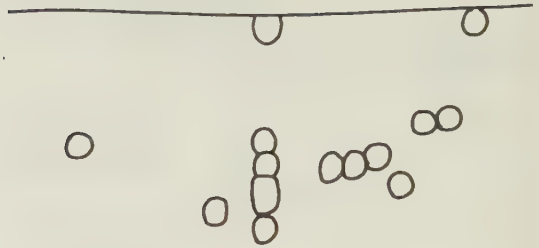
Abb. 17

Trennung von WM

Kieselgur 6

Undecan / Acetonitril

Berberinsulfat



0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 M 10 11 12 13 14 15 16 17 18

Abb. 18

Trennung von WM

Kieselgur 6

Undecan / Acetonitril

+ 5 % Wasser

Berberinsulfat



0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 M 10 11 12 13 14 15 16 17 18

Abb. 19

Trennung von WM

Undecan / Acetonitril

+ 10 % Wasser

Berberinsulfat

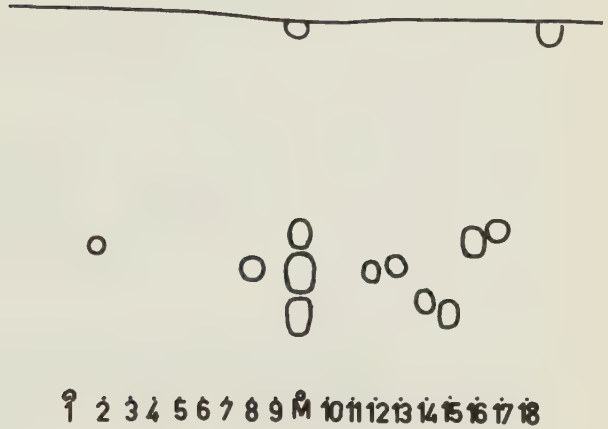


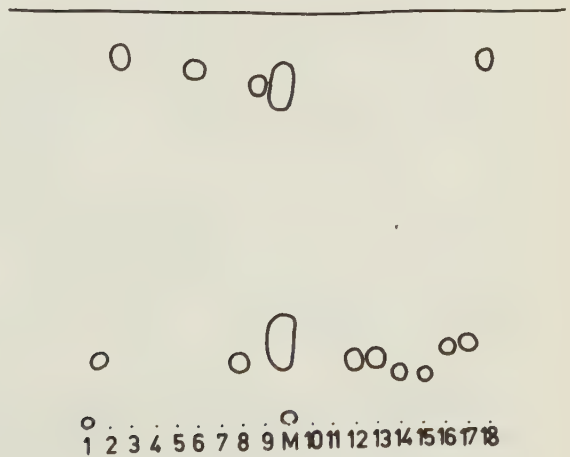
Abb. 20

Trennung von WM

Undecan / Acetonitril

+ 20 % Wasser

Berberinsulfat



Bei dem Fließmittel Acetonitril + 20 % Wasser waren auch einige der weniger hydrophoben Weichmacher (Trichloräthylphosphat, Butoxyäthylphthalat und Trikresylphosphat) im oberen Teil des Chromatogramms zu sehen, während sie bei den übrigen Fließmitteln ausnahmslos in die Lösungsmittelfront geschwemmt wurden.

Die 4 Fließmittel ließen eine völlige Auftrennung der 9 Weichmacher nicht zu, jedoch unterscheiden sich die Fließmittel in ihrem Trennverhalten den einzelnen Weichmachern gegenüber.

Welches der 3 Fließmittel (Acetonitril, Acetonitril + 5 % Wasser, bzw. 10 % Wasser) zur Trennung bestimmter Weichmacher herangezogen werden kann, zeigt Tab. 20.

Tab. 20 Verteilungschromatographische Systeme zur Trennung von Weichmachern mit Undecan als stationärer Phase

Weichmacher	2	8	12	13	14	15	16	17	18
2		MNO	MNO	MNO	MNO	MNO			MNO
8	MNO		M	M	MNO	NO	MNO	MNO	MNO
12	MNO	M				NO	MNO	MNO	MNO
13	MNO	M				NO	MNO	MNO	MNO
14	MNO	MNO	NO	NO		MN	MNO	MNO	MNO
15	MNO	NO	MNO	MNO	MN		MNO	MNO	MNO
16		MNO	MNO	MNO	MNO	MNO			MNO
17		MNO	MNO	MNO	MNO	MNO			MNO
18	MNO	MNO	MNO	MNO	MNO	MNO	MNO	MNO	MNO

M = Undecan / Acetonitril

N = " / " + 5 % Wasser

O = " / " + 10 % Wasser

Als Besonderheit zeigen alle diese 3 Fließmittel die Eigenschaft, Decylphthalat eindeutig von Äthylhexyl- und Nonylphthalat zu trennen, was bei der Adsorptionschromatographie nur in Ringchromatogrammen mit Hilfe der Mehrfachentwicklung möglich ist.

Die mittleren R_F -Werte der 9 Weichmacher in den Systemen Undecan / Acetonitril mit 0 - 10 % Wasserzusatz ergeben sich aus Tab. 21.

Tab. 21

R_F-Werte von Weichmachern

Lösungsmittelsysteme: Undecan / Acetonitril
(mit 0 - 10 % Wasser)

Weich- macher	Acetonitril			Acetonitril + 5 % Wasser			Acetonitril + 10 % Wasser		
	$\bar{u}$	F_D	f_d	$\bar{u}$	F_D	f_d	$\bar{u}$	F_D	f_d
2	0,66 ± 0,02	0,05		0,54 ± 0,01	0,04		0,40 ± 0,01	0,03	
8	0,49 ± 0,01	0,04		0,43 ± 0,01	0,03		0,39 ± 0,01	0,03	
12	0,61 ± 0,02	0,07		0,48 ± 0,01	0,04		0,34 ± 0,01	0,03	
13	0,61 ± 0,02	0,06		0,49 ± 0,02	0,05		0,36 ± 0,01	0,03	
14	0,62 ± 0,02	0,06		0,43 ± 0,02	0,05		0,26 ± 0,01	0,02	
15	0,55 ± 0,02	0,05		0,36 ± 0,02	0,05		0,23 ± 0,01	0,02	
16	0,71 ± 0,02	0,07		0,55 ± 0,02	0,06		0,41 ± 0,02	0,05	
17	0,72 ± 0,02	0,07		0,60 ± 0,02	0,06		0,45 ± 0,02	0,04	
18	0,98 ± 0,02	0,05		0,98 ± 0,02	0,05		0,97 ± 0,02	0,05	

Die Mehrfachentwicklung zur Erhöhung des Trenneffektes wurde bei den Systemen Undecan / Acetonitril (mit 0 - 10 % Wasser) nicht angewandt, da die R_F-Werte häufig schon über 0,5 lagen und weil Undecan relativ flüchtig ist (K_p 196°C), so daß es bei einer Mehrfachentwicklung mit Sicherheit zur Verarmung der Trägerschicht an stationärer Phase kommt.

Die Imprägnierung von Kieselgurschichten mit Siliconöl beschreiben Kaufmann und Mitarbeiter. (164)

Wir verwendeten Siliconöl AK 350 der Fa. Wacker-Chemie, München, in Form der 7 % Lösung in Petroläther (K_p 40 - 60°C). Zwischen Imprägnierung und Chromatographie wurde ebenfalls 1 h gewartet, obwohl bei Siliconöl wegen seines niedrigen Dampfdrucks keine Verarmung der Trägerschicht durch Verdunstung zu erwarten ist.

Als Fließmittel bewährte sich am besten Acetonitril - Eisessig-Wasser = 7 : 1 : 2,5 (gesättigt mit Siliconöl), welches Malins und Mangold (165) zur Trennung der Methylester höherer Fettsäuren empfehlen.

Eine ähnlich trennende Wirkung besaßen auch die Fließmittel Acetonitril-Wasser = 6 : 1 und Acetonitril-Wasser = 4 : 1, nur waren die R_F -Wertunterschiede der einzelnen Weichmacher geringer und die R_F -Werte selbst größer.

Wir bevorzugten das Fließmittel aus Acetonitril, Eisessig und Wasser, weil wegen der niedrigen R_F -Werte die Mehrfachentwicklung angewandt werden konnte, die eine Steigerung des Trenneffektes ermöglichte.

Ein Chromatogramm aller Weichmacher in dem System Acetonitril-Eisessig-Wasser = 7 : 1 : 2,5 zeigt die Abb. 21. Die Weichmacher 3, 4, 5, 6, 7 und 9 waren auf dem Chromatogramm nicht sichtbar, da sie mit der Lösungsmittelfront gewandert waren. Mesamoll lag kurz unterhalb der Front. Die übrigen Weichmacher (2, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17) waren in drei Gruppen getrennt worden. Sie wurden erneut mit Hilfe des gleichen Systems chromatographiert, und zwar durch ein- bis dreimaliges Entwickeln mit demselben Fließmittel. Das Chromatogramm nach einmaligem Entwickeln zeigt die Abb. 22, das nach dreimaligem Entwickeln die Abb. 23. Eine deutliche Steigerung des Trenneffektes ist ohne weiteres erkennbar. Nur die Weichmacher 12 und 13, sowie 16 und 17 ließen sich nicht voneinander trennen.

Die mittleren R_F -Werte der Weichmacher aus je 5 Chromatogrammen nach ein- und dreimaligem Entwickeln finden sich in Tab. 22.

Den nach dreimaligem Entwickeln erhaltenen R_F -Werten wurden die nach der Formel von Jeannes (152) errechneten Werte gegenübergestellt.

Im großen und ganzen stimmten auch in diesem Fall die analytisch und rechnerisch ermittelten R_F -Werte überein.

Tab. 22

R_F-Werte von Weichmachern

Weich- macher	R _F 1			R _F 2			R _F 3				
	a) F _D	f _d		a) F _D	f _d	b)	a) F _D	f _d	b)		
2	0,45	±0,03	0,09	0,66	±0,03	0,09	0,70	0,79	±0,03	0,08	0,83
8	0,37	±0,02	0,05	0,55	±0,03	0,08	0,60	0,66	±0,03	0,08	0,75
10	0,82	±0,03	0,08								
11	0,82	±0,03	0,08								
12	0,43	±0,03	0,09	0,64	±0,03	0,09	0,68	0,76	±0,03	0,08	0,81
13	0,43	±0,03	0,09	0,64	±0,03	0,09	0,68	0,76	±0,03	0,08	0,81
14	0,25	±0,02	0,05	0,43	±0,03	0,09	0,44	0,64	±0,02	0,05	0,58
15	0,23	±0,02	0,05	0,39	±0,03	0,09	0,39	0,57	±0,02	0,05	0,55
16	0,50	±0,03	0,09	0,72	±0,03	0,09	0,75	0,87	±0,03	0,09	0,88
17	0,49	±0,03	0,09	0,73	±0,03	0,09	0,74	0,87	±0,03	0,09	0,87
18	0,98	±0,01	0,04								

a) analytisch ermittelt (Siliconöl / Acetonitril-Eisessig-Wasser
= 7 : 1 : 2,5, 1 - 3mal entwickelt)

b) rechnerisch ermittelt ($R_{Fn} = 1 - (1 - R_{F1})^n$).

Abb. 21

Trennung von WM

Kieselgur G

Siliconöl /

Acetonitril : Eisessig :

Wasser = 7 : 1 : 2,5

Joddampf + Rhodamin B

1mal entwickelt

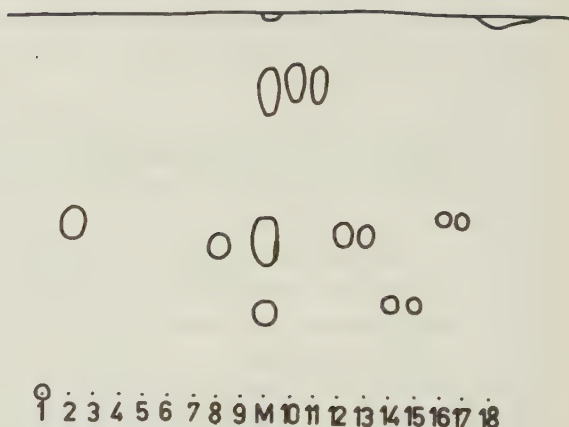


Abb. 22

Trennung der

WM 2,8 12-17

Kieselgur G

Siliconöl/Ace-

tonitril:Eis-

essig:Wasser

= 7 : 1 : 2,5

Joddampf +

Rhodamin B

1mal entwickelt

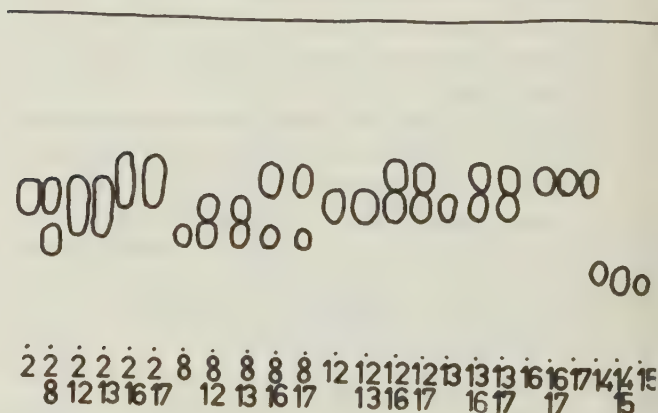


Abb. 23

Trennung der WM

Nr. 2, 8 12-17

Kieselgur G

Siliconöl/Ace-

tonitril:Eis-

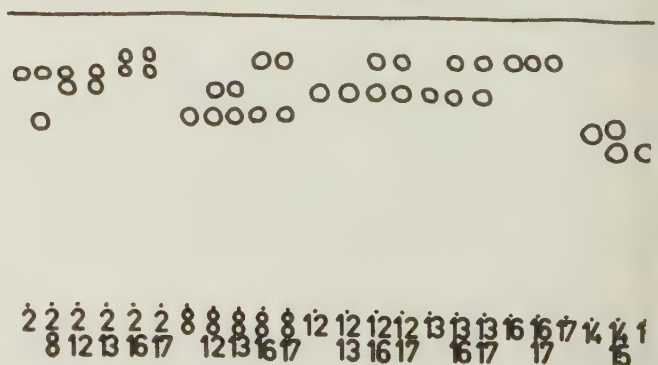
essig:Wasser

= 7 : 1 : 2,5

Joddampf +

Rhodamin B

3mal entwickelt



Die Trennung von Weichmachermischungen unbekannter Zusammensetzung mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie:

Bei der dünnschichtchromatographischen Trennung und Identifizierung von Weichmachermischungen unbekannter Zusammensetzung trennt man am besten zunächst durch Adsorptionschromatographie mit Hilfe einer der von Peereboom (123), Braun (124) und Diemair-Goeckel (104) angegebenen Methoden, unter Zuhilfenahme von Vergleichssubstanzen.

Vergleichssubstanzen müssen mitlaufen, da die R_F -Werte nur unter genauer Einhaltung der Versuchsbedingungen reproduzierbar sind.

Die Beeinflussung der R_F -Werte kann durch eine Reihe von Faktoren erfolgen. (166) Eine wichtige Rolle spielen die Qualität des Schichtmaterials, die sich von Charge zu Charge ändern kann, der Aktivierungsgrad der Schicht, die Schichtdicke, die Zusammensetzung des Fließmittels, die Sättigung der Trennkammer und - besonders bei adsorptionschromatographischen Verfahren - die Menge der aufgetragenen Substanz, sowie eventuelle Begleitsubstanzen.

Zur adsorptionschromatographischen Trennung von Weichmachern ist das Fließmittel Methylenchlorid nach Braun (124) deshalb gegenüber den anderen beschriebenen Fließmitteln (104, 123) von Vorteil, weil es als einziges einkomponentig ist. Bei Mehrkomponenten-Fließmitteln kann leicht eine Veränderung der Zusammensetzung durch Verdampfung der flüchtigeren Bestandteile erfolgen.

Ergibt sich auf Grund des Adsorptionschromatogramms keine eindeutige Identifizierung der fraglichen Weichmacher, da die erhaltenen R_F -Werte für mehrere Weichmacher charakteristisch sind, geht man zu einer anderen Trennmethode über. Welche Trennmethode sich für bestimmte Weichmacherkombinationen am besten eignet, kann man aus Tab. 23 entnehmen.

Will man nacheinander zwei adsorptionschromatographische Methoden anwenden, kann man die zweidimensionale Chromatographie ausführen, mit Ausnahme bei Ringchromatogrammen.

Geht man jedoch von der Adsorptionschromatographie zur Verteilungschromatographie über, so muß ein neues Chromatogramm hergestellt werden, da bei Adsorptionschromatogrammen Kieselgel G, bei Verteilungschromatogrammen Kieselgur G als Beschichtungsmaterial verwendet wird.

Tab. 23

Methoden zur Trennung von Weichmachern

Weich- macher	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		ABCDE FGIKL MNO PQ	B DE FGIKL MNO PQ	AB DE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ
2	ABCDE FGIKL MNO PQ		ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG L MNO Q	A C E FGIKL MNO PQ
3	B DE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ		D FGIK	ABC E FGIKL	ABC E GIKL	ABC E FGIKL	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL
4	AB DE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	D FGIK		ABCDE FGIKL	ABCDE FGIKL	ABCDE FGIKL	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL
5	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABC E FGIKL	ABCDE FGIKL		FGIKL	FGIK	AB DE FGIKL MNO PQ	AB DE FGIKL
6	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABC E GIKL	FGIKL	FGIKL		FGIKL	AB DE FGIKL MNO PQ	AB DE FGIKL
7	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABC E FGIKL	ABCDE FGIKL	FGIK	FGIKL		AB DE FGIKL MNO PQ	AB DE FGIKL
8	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG L MNO Q	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	AB DE FGIKL MNO PQ	AB DE FGIKL MNO PQ	AB DE FGIKL MNO PQ		AB DE FGIKL MNO PQ
9	ABCDE FGIKL MNO PQ	A C E FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL	ABCDE FGIKL	AB DE FGIKL	AB DE FGIKL	AB DE FGIKL	AB DE FGIKL MNO PQ	
10	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE P	ABCDE P	ABCDE P	ABCDE P	ABCDE P	ABCDE FGIKL MNO PQ	A C E FGIKL P
11	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE P	ABCDE P	ABCDE P	ABCDE P	ABCDE P	ABCDE FGIKL MNO PQ	A C E FGIKL P
12	ABCDE FGIKL MNO PQ	A C E FGIKL MNO Q	ABCDE MNO PQ	ABCDE MNO PQ	ABCDE MNO PQ	ABCDE MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG	A CDE FGIKL
13	ABCDE FGIKL MNO PQ	A C E FG L MNO Q	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG	A CDE FGIKL
14	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABC E G L MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG	ABCDE FGIKL
15	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG L MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG	ABCDE FGIKL
16	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG L MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG	ABCDE FGIKL
17	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG L MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG	ABCDE FGIKL
18	ABCDE FGIKL MNO PQ	ABCDE FG L MNO PQ	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL	ABCDE FGIKL	ABCDE FGIKL	ABCDE FGIKL	ABCDE FG	ABCDE FGIKL

Tab. 23 (Fortsetzung) Methoden zur Trennung von Weichmachern

Weich- macher	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ
2	FGIKL MNOPQ	FGIKL MNOPQ	A C E G L MNO Q	A C E G L MNO Q	ABC E G L MNOPQ	ABCDE FG L MNOPQ	ABCDE FG L Q	ABCDE FG L Q	ABCDE FG L MNOPQ
3	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL
4	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL
5	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL
6	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL
7	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL
8	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FG M Q	ABCDE FG M Q	ABCDE FG MNOPQ	ABCDE FG NOPQ	ABCDE FG MNO Q	ABCDE FG MNO Q	ABCDE FG MNOPQ
9	A C E FGIKL P	A C E FGIKL P	A CDE FGIKL MNOPQ	A CDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL
10			A CDE FGIKL MNOPQ	A CDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL P
11			A CDE FGIKL MNOPQ	A CDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL
12	A CDE FGIKL MNOPQ	A CDE FGIKL MNOPQ			AB E G NOPQ	AB DE FG MNOPQ	AB DE FG MNO Q	AB DE FG MNO Q	ABCDE FG MNOPQ
13	A CDE FGIKL MNOPQ	A CDE FGIKL MNOPQ			AB E G NOPQ	AB DE FG MNOPQ	AB DE FG MNO Q	AB DE FG MNO Q	ABCDE FG MNOPQ
14	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	AB E G NOPQ	AB E G NOPQ		D FG MN Q	D FG MNOPQ	D FG MNOPQ	ABCDE FG MNOPQ
15	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	AB DE FG MNOPQ	AB DE FG MNOPQ	D FG MN Q		H MNOPQ	H MNOPQ	ABCDE FG MNOPQ
16	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	AB DE FG MNO	AB DE FG MNO Q	D FG MNOPQ	H MNOPQ			ABCDE FG MNOPQ
17	ABCDE FGIKL MNOPQ	ABCDE FGIKL MNOPQ	AB DE FG MNO	AB DE FG MNO Q	D FG MNOPQ	H MNOPQ			ABCDE FG MNOPQ
18	ABCDE FGIKL P	ABCDE FGIKL P	ABCDE FG MNOP	ABCDE FG MNOPQ	ABCDE FG MNOPQ	ABCDE FG MNOPQ	ABCDE FG MNOPQ	ABCDE FG MNOPQ	

Wie aus Tab. 23 zu entnehmen ist, sind folgende Weichmacherpaare bzw. -gruppen durch keine der beschriebenen Methoden voneinander zu trennen:

1. Butyl- und Isobutylphthalat
2. Äthylhexyl- und Nonyladipat
3. Äthylhexyl- und Nonylphthalat.

Die Identifizierung der Weichmacher nach der dünnschichtchromatographischen Trennung: Spezifische Nachweisreagentien für alle Weichmacher sind nicht bekannt, jedoch lassen sich einige Weichmacher auf Grund bestimmter funktioneller Gruppen selektiv anfärben:

Zum Nachweis von Carbonsäureestern eignet sich die Hydroxamsäure-reaktion (167): Die Ester werden durch Erhitzen mit Hydroxylamin in alkalischer Lösung in die Hydroxamsäuren überführt, welche mit Eisen-III-Salzen violett gefärbte Chelatkomplexe ergeben.

Enthält ein Esterweichmacher eine phenolische Komponente (z.B. Tri-kresylphosphat), läßt sich diese nach der Verseifung durch Kuppeln mit Diazoniumsalzen zu Azofarbstoffen nachweisen. (124)

Phthalsäureester können mit Hilfe der Reaktion von Phthalsäure-anhydrid mit Resorcin zu Fluoresoein identifiziert werden. (124)

Zum unspezifischen Nachweis lassen sich viele der allgemein für Lipide anwendbaren Reagentien auch zum Nachweis dünnschichtchromatographisch getrennter Weichmacher verwenden:

Durch Besprühen der Platten mit 50 - 100 %iger Schwefelsäure und anschließendem Erhitzen werden Weichmacher verkohlt und dadurch sichtbar gemacht. (153)

Schwefelsäure mit Zusatz eines Aldehyds (z.B. Vanillin) (153), sowie Chromschwefelsäure und Kaliumpermanganat-Schwefelsäure ergeben häufig schon in der Kälte Färbungen. (168)

Auch reduzierende Reagentien, wie Antimonpentachlorid (124) und Phosphormolybdänsäure sind zum Nachweis von Weichmachern verwendbar. (164, 125)

Mit Joddampf oder Jodlösung geben Weichmacher hellbraune Flecken auf Chromatogrammen. Diese Nachweismethode hat den Vorteil, daß es nur zu einer reversiblen Adsorptionsbindung zwischen Jod und Weichmacher kommt, und das Jod sich durch Erhitzen wieder verflüchtigen läßt, so daß man anschließend noch andere Nachweisverfahren anwenden kann. (169)

Da alle untersuchten Weichmacher mehr oder minder stark im ultravioletten Bereich absorbieren (104), lassen sie sich auf fluoreszierenden Schichten nachweisen.

Fluoreszierende Kieselgelschichten kann man mit Hilfe anorganischer Fluoreszenzstoffe (z.B. Leuchtstoff ZS Super der Fa. Riedel-Haen) oder organischer Fluoreszenzfarbstoffe, die durch UV-Licht angeregt werden (z.B. Rhodamin B) herstellen. (149)

Die anorganischen Fluoreszenzstoffe werden von vornherein dem Sorptionsmittel zugemischt, die organischen Fluoreszenzfarbstoffe kann man in Form ihrer Lösung auf das fertige Chromatogramm aufsprühen. Verwendet man organische Fluoreszenzfarbstoffe, die so fest am Sorptionsmittel haften, daß sie vom Fließmittel nicht ausgewaschen werden können, kann man die Schicht auch von vornherein mit dem Farbstoff anfärben. Nach Brockmann (170) eignet sich für Kieselgel besonders gut Berberin und für Aluminiumoxyd Morin.

Bei Bestrahlung mit UV-Licht erscheinen die Stellen des Chromatogramms, auf denen die UV-Licht absorbierenden Substanzen sitzen, infolge der stärkeren Lichtabsorption dunkler als die übrigen Teile des Chromatogramms. Manche Substanzen sind auch in der Lage, die Fluoreszenz zu löschen und werden dadurch sichtbar. Fluoreszenzlöschung erfolgt nur bei Schichten, die mit organischen Fluoreszenzfarbstoffen angefärbt worden sind. (170)

Bei dieser Art des Nachweises ist die untere Nachweisgrenze der einzelnen Weichmacher sehr verschieden, je nach Zahl und Art der Chromophore im Molekül. Phthalsäureester sind z.B. in sehr viel geringerer Konzentration nachweisbar als die entsprechenden Ester aliphatischer Dicarbonsäuren.

Während alle beschriebenen Nachweisreagentien sehr einfach auf den anorganischen Schichten von Adsorptionschromatogrammen angewandt

werden können, bereitet der Nachweis auf den hydrophilierten Platten der Verteilungsschrogramme Schwierigkeiten. So war es z.B. nicht möglich, auf Platten, die mit Paraffin oder Polyäthylenglykolen imprägniert worden waren, alle Weichmacher nachzuweisen. Nur die Weichmacher mit aromatischen Komponenten ließen sich mit Rhodamin B sichtbar machen.

Der Vorteil der Imprägnierung mit Undecan und Phenoxyäthanol besteht darin, daß sich beide durch etwa einstündiges Erhitzen im Trockenschrank auf 120°C vollständig entfernen lassen. Anschließend kann man die Weichmacher ohne Schwierigkeiten nachweisen. Allerdings ist dabei zu beachten, daß sich einige Weichmacher beim Erhitzen mit dem Imprägnierungsmittel zusammen verflüchtigen können. Dies wurde bei Trichloräthylphosphat, Glycerintriacetat, Tributylcitrat, Dimethoxyäthyl-, Dibutyl- und Diisobutylphthalat beobachtet. Die Platten dürfen daher auf keinen Fall zu lange erhitzt werden.

Zur permanenten Hydrophobierung wurde wegen der Schwierigkeit des Nachweises nur Siliconöl verwandt. Auch in Gegenwart dieses anorganischen Imprägnierungsmittels ist die Identifizierung von Weichmachern auf den Dünnschichtchromatogrammen erschwert. Fluorescierende Schichten erwiesen sich als unbrauchbar. Auch der Verwendung von Sprühreagentien sind Grenzen gesetzt, da Siliconplatten sich nur schwer benetzen lassen. Häufig können die Sprühreagentien nicht in die Schicht eindringen, sondern fließen von der Oberfläche wieder ab, wodurch das Chromatogramm zerstört werden kann. Möglich war der Nachweis mit Kaliumpermanganat-Schwefelsäure (168) und mit dem Hydroxamsäurereagens. (171)

Am besten erwiesen sich aber folgende zwei Methoden:

1. Es wurde festgestellt, daß kurz nach Herausnahme des Chromatogramms aus der Trennkammer, wenn ein Teil des Fließmittels schon verdunstet ist, das Chromatogramm aber noch leicht feucht ist, sich die getrennten Substanzen beim Betrachten gegen eine Lichtquelle als weiße Flecken auf durchsichtigem Grund sehr leicht erkennen lassen.
2. Sowohl mit Joddampf als auch mit Rhodamin B-Lösung sind Weichmacher auf siliconierten Platten nur schwierig zu erkennen. Es wurde gefunden, daß durch Kombination beider

Methoden sämtliche Weichmacher eindeutig identifiziert werden können.

Bei den beschriebenen dünn-schicht-chromatographischen Weichmachertrennungen wurden folgende Reagentien verwandt:

1. Kaliumpermanganat-Schwefelsäure (168):

0,5 g Kaliumpermanganat wurde in 15 ml conc. Schwefelsäure gelöst.

Das entwickelte Chromatogramm wurde 10 min erhitzt, auf 50°C abgekühlt und mit dem Reagens besprüht. Auf nicht imprägnierten Schichten waren 1γ der Weichmacher, auf siliconierten Schichten 5γ als weiße Flecken auf rosa Grund nachweisbar.

2. Hydroxamsäurereaktion:

Die Hydroxamsäurereaktion wurde nach der von Tate und Bishop für Zuckerester angegebenen Methodik ausgeführt. (153, 171)

Es wurden folgende Lösungen benötigt:

- I. 10proz. wäßrige Lösung von Hydroxylaminhydrochlorid
- II. 20proz. Natronlauge
- III. 40 g Eisen-III-nitrat gelöst in 600 ml dest. Wasser und 400 ml Eisessig.
- IV. conc. Salzsäure.

Gleiche Volumina der Lösungen I und II wurden gemischt und die Platten damit besprüht bis sie gleichmäßig durchfeuchtet waren. Anschließend wurden die Platten 10 min auf 100 - 120°C erhitzt und nach dem Abkühlen mit einer Mischung aus 45 ml Lösung III und 6 ml Lösung IV besprüht. Carbonsäureester-Weichmacher ergaben purpurne Flecke auf gelbem Grund.

Auf nicht imprägnierten Schichten waren 5γ, auf siliconierten Schichten 15 - 20γ nachweisbar.

3. Joddampf (169, 172, 173):

Das Chromatogramm wurde in ein geschlossenes Gefäß gestellt, auf dessen Boden sich einige Körnchen Jod befanden. Durch Erhitzen des Gefäßes auf dem Wasserbad entstanden

reichlich Joddämpfe, welche die Weichmacher braun färbten.

Auf nicht imprägnierten Schichten war noch 1γ aller Weichmacher nachweisbar, auf siliconierten Schichten waren von Thiodibuttersäureäthylhexylester und Triäthylhexylphosphat 1 - 2γ zu erkennen, von Äthylhexyl- und Nonyladipat, Äthylhexyl-, Nonyl- und Decylphthalat und Acetyltriäthylhexylcitrat erst 15 - 20γ .

4. Leuchtstoff ZS Super (149):

Der Streichmasse, die zur Herstellung von 5 Platten (20 x 20 cm) diente, wurde 1 g Leuchtstoff ZS Super beigemischt. Die fertigen Chromatogramme wurden im UV-Licht bei 254 nm betrachtet.

Auf Kieselgelplatten war 1γ der Weichmacher mit aromatischen Komponenten sichtbar, alle anderen Weichmacher erst in Mengen von etwa 20γ .

Auf Kieselgurplatten war die untere Nachweisgrenze etwa doppelt so hoch wie auf Kieselgelplatten.

Auf siliconierten Platten ließen sich nur Weichmacher mit aromatischen Komponenten in Mengen von etwa 40γ nachweisen.

5. Berberinsulfat (170):

Die Streichmasse für 5 Platten (20 x 20 cm) wurde mit 10 mg Berberinsulfat angefärbt.

Auf nicht imprägnierten Kieselgel- und Kieselgurplatten war 1γ aller Weichmacher beim Betrachten im UV-Licht bei 360 nm nachweisbar. Für imprägnierte Schichten ist dieses Reagens nicht brauchbar.

6. Rhodamin B (163):

Die entwickelten und getrockneten Chromatogramme wurden mit einer 0,05 proz. wäßrigen Lösung von Rhodamin B besprüht und im UV-Licht betrachtet.

Auf nicht imprägnierten Platten war 1γ aller Weichmacher noch zu erkennen, auf siliconierten Platten 1γ der Weichmacher mit aromatischen Komponenten.

7. Betrachten des feuchten Chromatogramms gegen eine Lichtquelle:

Diese Methode ist nur bei siliconierten Platten anwendbar.

1% aller Weichmacher war nachweisbar.

8. Rhodamin B + Joddampf:

Die entwickelten und getrockneten Chromatogramme wurden mit einer 0,05proz. wäßrigen Lösung von Rhodamin B besprüht, abermals getrocknet und in ein Gefäß mit Joddämpfen gestellt. Nach etwa 15 min wurden die Chromatogramme herausgenommen und sofort im UV-Licht (360 nm) betrachtet. Alle Weichmacher waren auf nicht imprägnierten Platten in Mengen von 1% und auf siliconierten Platten in Mengen von 5 - 10% als dunkelviolette Flecken auf hellrosa fluoreszierendem Grund sichtbar.

Die beschriebenen Nachweisreagentien eignen sich dazu, die Lage der getrennten Weichmacher auf den Chromatogrammen festzustellen, wodurch ihre R_F -Werte bestimmt werden können. Durch Mitlaufenlassen von Vergleichssubstanzen ergibt sich häufig schon die Möglichkeit der Identifizierung.

Zur eindeutigen Identifizierung unbekannter Weichmacher empfiehlt es sich, sie aus den Dünnschichtchromatogrammen zu isolieren und das Infrarotspektrum aufzunehmen.

Man trägt dazu eine Lösung der Weichmacher (z.B. in Tetrachlorkohlenstoff) mit einem Gehalt von 0,5 - 1,0 mg der Substanz strichförmig auf eine Dünnschichtplatte auf und chromatographiert wie üblich. Um die Lage der Substanzflecken aufzufinden, verwendet man fluoreszierende Schichten. Am besten eignen sich solche, die Leuchtstoff ZS Super enthalten, da dieser sich nicht in den organischen Lösungsmitteln löst, die zur Elution der Weichmacher verwendet werden können (z.B. Äther). Auch Joddampf eignet sich zum Nachweis der Weichmacher vor der Elution: Die Substanzflecken werden umrandet und anschließend das Jod durch Erhitzen der Platte wieder verflüchtigt. Diese Methode eignete sich für alle Weichmacher bis auf Thiodibuttersäureäthylhexylester. Bei diesem Weichmacher konnte nicht sämtliches Jod durch Erhitzen wieder entfernt werden.

Bei der Auswertung von Ringschromatogrammen müssen die getrennten Substanzen anschließend durch ihre Infrarotspektren identifiziert werden, da man keine Vergleichssubstanzen mitchromatographieren

kann. Größere Substanzmengen, die zur Aufnahme eines Infrarotspektrums nötig sind, lassen sich ohne weiteres bei der ringförmigen Chromatographie anwenden, doch ist dabei zu beachten, daß bei der Verwendung von mehr als 20 - 30 γ / Substanz keine scharfen Trenneffekte erhalten werden; es können Substanzen mit nahe beieinander liegenden R_F -Werten voneinander nicht getrennt werden. Die gleiche Beobachtung macht man allerdings häufig auch bei der aufsteigenden Arbeitsweise. Es ist daher in jedem Fall günstiger, zunächst ein Vorchromatogramm herzustellen und nach Bestimmung des R_F -Wertes ein neues Chromatogramm mit größeren Substanzmengen anzufertigen, aus dem der Weichmacher dann isoliert und infrarotspektroskopisch identifiziert wird.

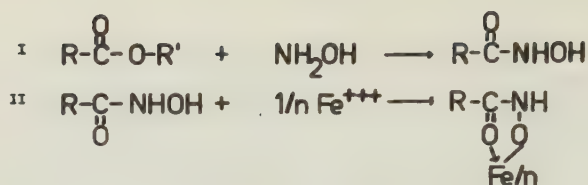
Zur Aufnahme der Infrarotspektren reichten bei allen 18 untersuchten Weichmachern Mengen von 0,5 - 1,0 mg aus. Die Weichmacher wurden in Form der 1proz. Lösung in Tetrachlorkohlenstoff strichförmig auf je eine Kieselgelplatte, welche Leuchtstoff ZS Super enthielt, aufgetragen.

Nach der Entwicklung mit Methylenchlorid und Nachweis der Weichmacher im UV-Licht (254 nm) wurden die weichmacherhaltigen Zonen des Chromatogramms abgeschabt und in ein Zentrifugenglas überführt. Nach Zugabe von 3 ml Äther wurde die Suspension gründlich durchmischt und anschließend zentrifugiert. Die überstehende klare Lösung wurde abgehebert und direkt auf einem der Küvettenfenster (aus Natriumchlorid) des Infrarotspektralphotometers (Doppelstrahl-Infrarotspektralphotometer von Perkin-Elmer) verdunstet gelassen. Dann wurde das zweite Küvettenfenster auf dem ersten ohne Distanzring befestigt und das Infrarotspektrum aufgenommen.

Die quantitative Bestimmung von Weichmachern nach dünnschichtchromatographischer Trennung:

Nun wurde die Anwendbarkeit der Hydroxamsäurereaktion zur quantitativen Bestimmung von Carbonsäureester-Weichmachern nach dünnschichtchromatographischer Trennung untersucht.

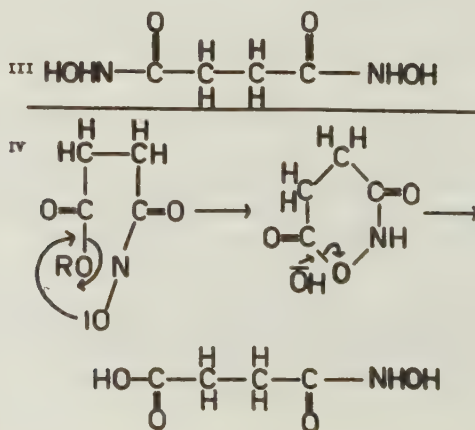
Carbonsäureester reagieren mit Hydroxylamin in alkalischem Medium zu den entsprechenden Hydroxamsäuren (I), welche mit Eisen-III-Ionen violett gefärbte Chelatkomplexe bilden (II) : (87).



Diese Reaktion ist häufig zur Bestimmung von Monocarbonsäureestern herangezogen worden. (104, 108)

Sie läßt sich auch zur Bestimmung von Dicarbonsäureestern verwenden, wie aus Untersuchungen von Fishman-Goldenberg und Spoerri hervorgeht (110), nur ist dabei zu beachten, daß Dicarbonsäureester je nach Konstitution unterschiedlich reagieren: Werden die beiden Estergruppen im Molekül des Dicarbonsäureesters nur durch 1 oder 2 Kohlenstoffatome voneinander getrennt, wie es z.B. bei Estern der Malon-, Bernstein- und Phthalsäure der Fall ist, erhält man eine weit geringere Farbausbeute als nach der Anzahl der Estergruppen im Vergleich zu äquimolekularen Monocarbonsäureestern zu erwarten ist.

Fishman-Goldenberg und Spoerri erklären diese atypische Reaktion der betreffenden Dicarbonsäureester damit, daß diese auf zweierlei Arten reagieren können: Die Umsetzung mit Hydroxylamin kann sowohl an beiden Estergruppen (Dihydroxamsäurereaktion III) als auch nur an einer Estergruppe erfolgen (Monohydroxamsäurereaktion IV):



Beide Reaktionen verlaufen nebeneinander und das Mengenverhältnis der entstehenden Reaktionsprodukte hängt von der Struktur des Esters ab.

Dicarbonsäureester, deren Estergruppen durch mehr als 2 Kohlenstoffatome voneinander getrennt sind, reagieren mit normaler Farbausbeute. (110)

Die Anwendbarkeit dieser kolorimetrischen Methode wurde zur Bestimmung von Esterweichmachern mit folgenden Säurekomponenten geprüft:

Essigsäure
Adipinsäure
Citronensäure
Phthalsäure
Thiodibuttersäure.

Bestimmungen von Citronensäure- und Thiodibuttersäureestern mit Hilfe der Hydroxamsäurereaktion sind - soweit uns bekannt - noch nicht durchgeführt worden. Sie liefern aber, wie die folgenden Ausführungen zeigen, ebenso reproduzierbare Werte wie die Bestimmungen von Mono- und Dicarbonsäureestern.

Die Darstellung der Eisen-III-Hydroxamate erfolgte nach der von Goddu und Mitarbeitern (108) beschriebenen Methode. Die Weichmacher wurden vorher einer dünnstschichtchromatographischen Trennung nach der Vorschrift von Braun (124) unterworfen.

Es wurden folgende Reagentien benötigt:

I. a) 12,5 g Natriumhydroxid wurden in 100 ml Methanol gelöst.

b) 12,5 g Hydroxylaminhydrochlorid wurden in 100 ml Methanol durch Erhitzen am Rückflußkühler gelöst.

Lösung a und b wurden zu gleichen Teilen gemischt und filtriert.

II. 0,8 g Eisenspäne wurden in 10 ml warmer 70 proz. Perchlorsäure gelöst. Nach Zugabe von 10 ml Wasser wurde mit absolutem Äthanol auf 100 ml aufgefüllt. 40 ml dieser Grundlösung wurden mit 12 ml 70 proz. Perchlorsäure versetzt und mit absolutem Äthanol auf 1000 ml aufgefüllt.

Zur Aufstellung der Eichkurven wurden folgende Weichmacher verwendet:

Glycerintriacetat
Di-2-äthylhexyladipat
Dinonyladipat
Tributylcitrat
Di-2-äthylhexylphthalat
Di-2-äthylhexylthiodibutyrat.

Von jedem Weichmacher wurden 10 Eichlösungen in Äthanol hergestellt mit einem Gehalt von 0,01 - 0,10 mMol Estergruppe / ml.

Je 5 ml dieser Lösungen wurden strichförmig auf eine Kieselgel-G-Platte aufgetragen, die Platte mit Methylenchlorid entwickelt und die Lage des Weichmachers mit Hilfe von Leuchtstoff ZS Super im UV-Licht ermittelt.

Die weichmacherhaltigen Zonen der Kieselgelschicht wurden abgeschabt und auf ein Papierfilter gebracht. Zur Elution des Kieselgels wurden 5 ml Äthanol (absolut) und anschließend 3 ml der alkalischen Hydroxylaminlösung tropfenweise auf das Filter gegeben. Die durch Filtration erhaltene Lösung wurde 5 min am Rückfluß erhitzt, mit Eisenperchloratreagens auf 50 ml aufgefüllt und in eine 20 mm Küvette überführt. Nach einigen Minuten wurde die Extinktion bei 520 nm im Spektralphotometer PM Q II von Zeiss gegen eine Blindlösung bestimmt, die auf die gleiche Weise durch Elution einer gleichgroßen weichmacherfreien Zone der Kieselgelschicht hergestellt worden war.

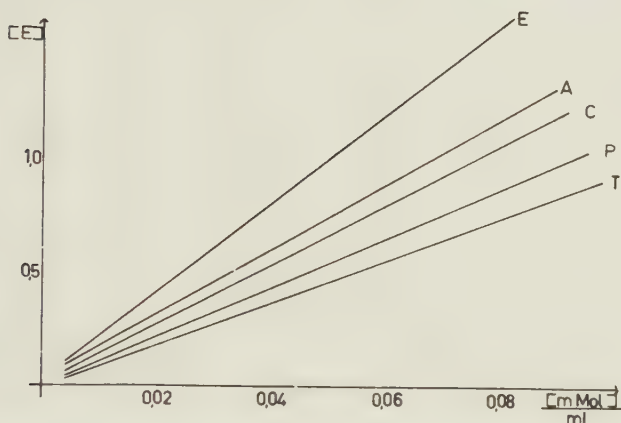
Die Absorptionsmaxima der verschiedenen Ester lagen zwischen 510 und 525 nm. Die Extinktion wurde einheitlich bei 520 nm bestimmt.

Die nach der beschriebenen Methode erhaltenen Eichkurven zeigt die Abb. 24.

Die entsprechenden Extinktionswerte und die molaren Extinktionskoeffizienten finden sich in Tab. 25 - 29.

Alle Eichkurven verlaufen in dem gemessenen Bereich linear und können daher zur quantitativen Bestimmung herangezogen werden.

Abb. 24 Eichkurven zur Bestimmung von Esterweichmachern
mit Hilfe der Hydroxamsäurereaktion



E = Ester der Essigsäure
 A = " " Adipinsäure
 C = " " Citronensäure
 P = " " Phthalsäure
 T = " " Thiodibuttersäure

Die Konzentrationsangabe bezieht sich auf den Gehalt an Estergruppen in den Eichlösungen.

Die molaren Extinktionskoeffizienten sind je nach Art der Säurekomponenten verschieden. Das war nach den Ausführungen von Fishman-Goldenberg und Spoerri zu erwarten, da sich die 5 Säuren in der Zahl und Anordnung der Carboxylgruppen voneinander unterscheiden. Den höchsten molaren Extinktionskoeffizienten besaß erwartungsgemäß der Monocarbonsäureester.

Tab. 25 Extinktionswerte zur Eichkurve von Essigsäureestern
(aufgestellt mit Glycerintriacetat)

Konzentration mMol/ml Eichlösung	Meßlösung	Meßwerte		Mittelwert E	$\epsilon = \frac{E}{c \cdot s}$
		E ₁	E ₂		
0,01	0,1 x 10 ⁻³	0,218	0,222	0,220	1,10 x 10 ³
0,02	0,2 "	0,412	0,418	0,415	1,04 "
0,03	0,3 "	0,631	0,624	0,627	1,05 "
0,04	0,4 "	0,839	0,842	0,841	1,05 "
0,05	0,5 "	0,996	0,992	0,994	0,99 "
0,06	0,6 "	1,229	1,234	1,232	1,03 "
0,07	0,7 "	1,421	1,429	1,425	1,02 "
0,08	0,8 "	1,615	1,619	1,617	1,01 "
0,09	0,9 "	1,810	1,816	1,813	1,01 "
0,10	1,0 "	2,080	2,074	2,077	1,04 "
Mittelwert = 1,03 x 10 ³					

Tab. 26 a Extinktionswerte zur Eichkurve von Adipinsäureestern
(aufgestellt mit Di-2-äthylhexyladipat)

Konzentration mMol/ml Eichlösung	Meßlösung	Meßwerte		Mittelwert E	$\epsilon = \frac{E}{c \cdot s}$
		E ₁	E ₂		
0,01	0,1 x 10 ⁻³	0,168	0,175	0,172	0,86 x 10 ³
0,02	0,2 "	0,311	0,319	0,315	0,79 "
0,03	0,3 "	0,483	0,477	0,480	0,80 "
0,04	0,4 "	0,603	0,600	0,602	0,75 "
0,05	0,5 "	0,753	0,759	0,756	0,76 "
0,06	0,6 "	0,903	0,898	0,900	0,75 "
0,07	0,7 "	1,039	1,041	1,040	0,74 "
0,08	0,8 "	1,200	1,194	1,197	0,75 "
0,09	0,9 "	1,340	1,346	1,343	0,75 "
0,10	1,0 "	1,505	1,497	1,501	0,75 "
Mittelwert = 0,77 x 10 ³					

Tab. 26 b Extinktionswerte zur Eichkurve von Adipinsäureestern
(aufgestellt mit Dinonyladipat)

Konzentration mMol/ml Eichlösung Meßlösung		Meßwerte E ₁ E ₂		Mittelwert E	$\xi = \frac{E}{c \cdot s}$
0,01	0,1 x 10 ⁻³	0,163	0,167	0,165	0,83 x 10 ³
0,02	0,2 "	0,309	0,315	0,312	0,78 "
0,03	0,3 "	0,470	0,460	0,465	0,78 "
0,04	0,4 "	0,607	0,617	0,612	0,77 "
0,05	0,5 "	0,756	0,758	0,757	0,76 "
0,06	0,6 "	0,897	0,892	0,895	0,75 "
0,07	0,7 "	1,042	1,044	1,042	0,74 "
0,08	0,8 "	1,190	1,196	1,193	0,75 "
0,09	0,9 "	1,339	1,341	1,340	0,74 "
0,10	1,0 "	1,501	1,502	1,502	0,75 "
Mittelwert = 0,77 x 10 ³					

Tab. 27 Extinktionswerte zur Eichkurve von Citronensäureestern
(aufgestellt mit Tributylcitrat)

Konzentration mMol/ml Eichlösung Meßlösung		Meßwerte E ₁ E ₂		Mittelwert E	$\xi = \frac{E}{c \cdot s}$
0,01	0,1 x 10 ⁻³	0,141	0,145	0,143	0,72 x 10 ³
0,02	0,2 "	0,269	0,275	0,272	0,68 "
0,03	0,3 "	0,426	0,423	0,425	0,71 "
0,04	0,4 "	0,533	0,550	0,542	0,68 "
0,05	0,5 "	0,689	0,683	0,686	0,69 "
0,06	0,6 "	0,818	0,819	0,819	0,69 "
0,07	0,7 "	0,967	0,954	0,960	0,69 "
0,08	0,8 "	1,089	1,093	1,091	0,68 "
0,09	0,9 "	1,228	1,216	1,222	0,68 "
0,10	1,0 "	1,326	1,338	1,332	0,67 "
Mittelwert = 0,69 x 10 ³					

Tab. 28 Extinktionswerte zur Eichkurve von Phthalsäureestern
(aufgestellt mit Di-2-äthylhexylphthalat)

Konzentration mMol/ml Eichlösung Meßlösung		Meßwerte E ₁ E ₂		Mittelwert E	$\xi = \frac{E}{c \cdot s}$
0,01	0,1 x 10 ⁻³	0,111	0,109	0,110	0,55 x 10 ³
0,02	0,2 "	0,220	0,231	0,225	0,56 "
0,03	0,3 "	0,335	0,338	0,337	0,56 "
0,04	0,4 "	0,444	0,445	0,445	0,56 "
0,05	0,5 "	0,556	0,567	0,561	0,56 "
0,06	0,6 "	0,664	0,672	0,668	0,56 "
0,07	0,7 "	0,771	0,763	0,767	0,55 "
0,08	0,8 "	0,880	0,876	0,878	0,55 "
0,09	0,9 "	0,997	1,009	1,003	0,56 "
0,10	1,0 "	1,114	1,124	1,119	0,56 "
					<u>Mittelwert = 0,56 x 10³</u>

Tab. 29 Extinktionswerte zur Eichkurve von Thiodibuttersäure-
estern
(aufgestellt mit Di-2-äthylhexylthiodibutyrat)

Konzentration mMol/ml Eichlösung Meßlösung		Meßwerte E ₁ E ₂		Mittelwert E	$\xi = \frac{E}{c \cdot s}$
0,01	0,1 x 10 ⁻³	0,089	0,090	0,089	0,45 x 10 ³
0,02	0,2 "	0,195	0,189	0,192	0,48 "
0,03	0,3 "	0,276	0,280	0,278	0,46 "
0,04	0,4 "	0,380	0,381	0,381	0,48 "
0,05	0,5 "	0,478	0,482	0,480	0,48 "
0,06	0,6 "	0,568	0,580	0,574	0,48 "
0,07	0,7 "	0,665	0,661	0,663	0,47 "
0,08	0,8 "	0,769	0,761	0,765	0,48 "
0,09	0,9 "	0,878	0,888	0,883	0,49 "
0,10	1,0 "	0,971	0,965	0,968	0,48 "
					<u>Mittelwert = 0,48 x 10³</u>

Zur Charakterisierung von Esterweichmachern ist es häufig zweckmäßig, die Alkohol- und die Säurekomponente gesondert zu identifizieren.

Zur Analytik beider Komponenten kann die Dünnschichtchromatographie herangezogen werden.

Die Dünnschichtchromatographie von Alkoholen

Alkohole mit niedrigem Siedepunkt müssen in Form von Derivaten chromatographiert werden, höhere Alkohole können auch direkt verwandt werden.

Sämtliche Alkohole wurden in Form ihrer 3,5-Dinitrobenzoesäureester chromatographiert.

Papierchromatographische Trennungen der 3,5-Dinitrobenzoesäureester verschiedener Alkohole sind häufig beschrieben worden. So berichteten Gasparic und Borecký in mehreren Veröffentlichungen über die Chromatographie von Alkoholen, Glykolen, Polyäthylenglykolen, Phenolen, Mercaptanen und Aminen in Form ihrer 3,5-Dinitrobenzoylderivate auf imprägniertem Papier. (129, 130)

Eine ähnliche Arbeitsweise verwendeten Sundt und Winter. (131) Micheel und Schminke (132) entwickelten 3,5-Dinitrobenzoate auf acetyliertem Papier, Rice und Mitarbeiter auf Papier, welches mit Silicagel imprägniert war. (133)

Dünnschichtchromatographische Methoden zur Trennung von 3,5-Dinitrobenzoaten sind weniger zahlreich.

Dhont und de Rooy trennten verschiedene Terpenalkohole auf Kieselgel G - Schichten mit Benzol-Petroläther (50 + 50) und Petroleumbenzin (Kp 105 - 120°C) - Isopropyläther (95 + 5) als Fließmittel. (134)

Waldi (135) trennte Methanol, Äthanol, Propanol und Butanol in Form ihrer 3,5-Dinitrobenzoesäureester auf Kieselgel G - Schichten mit Cyclohexan-Tetrachlorkohlenstoff-Äthylacetat (10 + 75 + 15) als Fließmittel. Diese Methode wurde auch zur Bestimmung von Blutalkohol herangezogen. (149)

Zur Überführung der Alkoholkomponente eines Esterweichmachers in das entsprechende 3,5-Dinitrobenzoat gibt es verschiedene Möglichkeiten.

So kann man Ester zunächst verseifen, den Alkohol isolieren und durch Umsetzung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in Gegenwart von Pyridin den entsprechenden Ester der 3,5-Dinitrobenzoesäure herstellen. (156)

Die Umsetzung des Alkohols mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid kann auch durch trockenes Erhitzen beider Komponenten ohne Pyridinzusatz in einem Mikroreagensglas auf 105 - 110°C vorgenommen werden. Das Reaktionsgemisch wird nach dem Abkühlen in Benzol gelöst und diese Lösung direkt zur Chromatographie verwandt. Bei dieser Methode von Gasparic und Borecký (130) erscheint auf dem Chromatogramm, außer dem 3,5-Dinitrobenzoesäureester des entsprechenden Alkohols noch 3,5-Dinitrobenzoesäure. Da diese jedoch in den angewandten Fließmitteln einen R_F -Wert von 0 besitzt, stört sie die Identifizierung der übrigen Substanzen nicht.

Zur Verseifung von Esterweichmachern erhitzt man sie am besten trocken mit festem Kaliumhydroxid in einem Mikrodestillationskölbchen, dessen rechtwinklig gebogenes Übergangsrohr in ein auf 0°C gekühltes schmales Reagensglas reicht. (77) Die durch trockene Verseifung abgespaltenen Alkohole ($C_1 - C_{10}$) und niederen Glykole destillieren ab und kondensieren im Übergangsrohr oder in der Vorlage. Alkohole mit mehr als 10 Kohlenstoffatomen werden nach Verseifung aus der wäßrig-alkoholischen Lösung mit Petroläther ausgeschüttelt.

Nach Bauer und Moll (174) ist es häufig nicht nötig, Ester vorher zu verseifen. Sie können vielmehr in vielen Fällen schon durch direktes Erhitzen mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in Gegenwart von Pyridin in die entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoate überführt werden.

Zur Spaltung von Ätherbrücken mit Hilfe von 3,5-Dinitrobenzoylchlorid wird Zink-II-chlorid als Katalysator empfohlen. (175)

Viele Ester kann man auch durch Erhitzen mit 3,5-Dinitrobenzoesäure in Gegenwart von Katalysatoren einer Umesterung unterziehen.

Renfrow und Chancey (176) untersuchten diese Reaktion an einer Reihe von Estern unter Verwendung von konz. Schwefelsäure oder p-Toluolsulfonsäure als Katalysatoren.

Ihren Ergebnissen nach eignet sich diese Methode zur Darstellung von 3,5-Dinitrobenzoaten aus einfachen Estern, deren Molekulargewicht unter 250 liegt.

Wir testeten die beschriebenen Methoden mit Hilfe des Weichmachers Butoxyäthylphthalat. Dieser besitzt sowohl eine Äther- als auch eine Estergruppierung und liefert bei völliger Spaltung beider Gruppierungen Butyl- und Äthylenglykol-3,5-dinitrobenzoat. Wird nur die Esterbindung gelöst, entsteht Butoxyäthyl-3,5-dinitrobenzoat.

Die nach den verschiedenen Methoden erhaltenen Reaktionsprodukte wurden dünnschichtchromatographisch auf Kieselgelschichten mit Benzol als Fließmittel aufgetrennt.

Als Vergleichssubstanzen wurden die 3,5-Dinitrobenzoesäureester des Butanols, des Äthylenglykols und des Butoxyäthanol, die nach Vorschrift von Gasparic (130) hergestellt worden waren, mitchromatographiert.

In den meisten Fällen erschienen auf den Chromatogrammen außer den zu erwartenden 3,5-Dinitrobenzoesäureestern noch ein bis drei weitere Umsetzungsprodukte unbekannter Zusammensetzung, weshalb diese Methoden als unbrauchbar ausschieden.

Nur durch Verseifung des Weichmachers mit Kaliumhydroxid, Isolierung des Alkohols und Umsetzung des Alkohols mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid wurde nur ein einziger 3,5-Dinitrobenzoesäureester - der 3,5-Dinitrobenzoesäureester des Butoxyäthanol - erhalten. Diese Methode erwies sich daher als allein brauchbar. Ihr Nachteil jedoch ist, daß die bei der Verseifung der Ester mit Ätzkali frei werdenden höheren aliphatischen Alkohole zu den entsprechenden Säuren oxydiert werden können, die vom eingesetzten Ätzkali gebunden werden und somit der Identifizierung entgehen. (17)

Wir verwandten daher für unsere Untersuchungen eine andere Methode: Äther- und Esterbindungen können durch Erhitzen mit Jodwasserstoffsäure quantitativ gespalten werden. Auf dieser Reaktion beruht die

quantitative Bestimmung von Methoxyl- und Äthoxylgruppen nach Zeisel. (177) Die entstandenen Alkyljodide werden aus der Reaktionslösung in eine Vorlage übergetrieben, und zwar Methyl- und Äthyljodid mit Hilfe eines Trägergasstroms (Kohlendioxid oder Stickstoff), höhere Alkyljodide am besten durch Wasserdampfdestillation. (86)

Durch Umsetzung der Alkyljodide mit dem Silbersalz der 3,5-Dinitrobenzoesäure erhält man die entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoesäureester. Von dieser Art der Umsetzung machen Furter (178) sowie Vecera u.a. (179) Gebrauch. Furter identifiziert die erhaltenen 3,5-Dinitrobenzoesäureester durch Schmelzpunkte, Vecera u.a. trennen und identifizieren papierchromatographisch.

Zur Überführung der Alkoholkomponente von Esterweichmachern in den entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoesäureester wurden 1 - 10 mg des Weichmachers mit 1 ml Jodwasserstoffsäure (70 %) in eine Ampulle von 2 ml Inhalt eingeschmolzen. Der Aufschluß erfolgte durch zweistündiges Erhitzen im Sandbad auf 120 - 130°C. (86) Nach dem Erkaltenlassen wurde die Ampulle geöffnet und der Inhalt in einen kleinen Scheidetrichter übergeführt.

Es war nicht erforderlich, das Alkyljodid durch Destillation abzutrennen; ein Ausschütteln der Reaktionslösung mit Äther war ausreichend. Zur Bindung der überschüssigen Jodwasserstoffsäure und des freien Jodes wurde die Reaktionslösung mit 10 ml n/1-Natronlauge versetzt und die farblos gewordene Lösung mit 20 ml Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde zweimal mit je 5 ml Salzsäure (1 %) und anschließend bis zum Verschwinden der sauren Reaktion mit Wasser gewaschen und mit frisch geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Die Trocknung des Äthers ist erforderlich, weil sonst das Silbersalz der 3,5-Dinitrobenzoesäure hydrolytisch zersetzt wird.

Anschließend wurde die ätherische Lösung mit 30 mg Silber-3,5-Dinitrobenzoat, welches nach Vorschrift von Furter (178) hergestellt worden war, in eine Ampulle eingeschmolzen und 2 h im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Ampulle geöffnet und der Inhalt zur Chromatographie verwandt.

Die bei der Reaktion mit entstehende 3,5-Dinitrobenzoesäure sowie

überschüssiges Silber-3,5-Dinitrobenzoat stören nicht bei der Chromatographie, da sie am Startpunkt zurückbleiben. Der zur Herstellung der 3,5-Dinitrobenzoesäureester verwendete Äther muß vorher einer Reinigung unterzogen werden, da der gebräuchliche Äther immer Spuren von Äthanol enthält. Man kocht ihn zu diesem Zweck etwa 60 min mit einem Überschuß von 3,5-Dinitrobenzoylchlorid am Rückfluß und destilliert anschließend. (149)

Zur Dünnschichtchromatographie der 3,5-Dinitrobenzoesäureester wurden wiederum adsorptions- und verteilungschromatographische Methoden herangezogen.

Die 3,5-Dinitrobenzoate folgender Alkohole wurden zur Chromatographie verwandt:

(In Klammern ist die Bezifferung der Alkohole in Tabellen und Abbildungen angegeben)

Methanol	(1)
Äthanol	(2)
n-Propanol	(3)
n-Butanol	(4)
Isobutanol	(4 ^x)
n-Pentanol	(5)
n-Hexanol	(6)
n-Heptanol	(7)
n-Octanol	(8)
Äthylhexanol	(8 ^x)
n-Nonanol	(9)
n-Decanol	(10)

Zur adsorptionschromatographischen Trennung der 3,5-Dinitrobenzoesäureester auf Kieselgelschichten eignete sich Benzol als Fließmittel. Durch einmaliges Entwickeln mit Benzol konnten die Glieder der homologen Reihe von n-Methanol bis n-Hexanol getrennt werden. Die 3,5-Dinitrobenzoate der Alkohole n-Heptanol bis n-Decanol dagegen zeigten sehr nah beieinanderliegende R_F -Werte. Die isomeren Alkohole Isobutanol und Äthylhexanol konnten nicht von den geradkettigen Alkoholen gleicher Kohlenstoffzahl getrennt werden.

Ein Chromatogramm der 3,5-Dinitrobenzoesäureester mit Benzol als Fließmittel zeigt die Abb. 25, die mittleren R_F -Werte aus 9 Chro-

matogrammen finden sich in Tab. 30.

Tab. 30

R_F-Werte von 3,5-Dinitrobenzoaten

Fließmittel: Benzol

3,5-Dinitro- benzoat von	$\bar{u}$	F_D	f_d
Methanol	0,41	$\pm 0,01$	0,03
Äthanol	0,47	$\pm 0,01$	0,03
n-Propanol	0,55	$\pm 0,01$	0,04
n-Butanol	0,62	$\pm 0,02$	0,05
Isobutanol	0,63	$\pm 0,02$	0,04
n-Pentanol	0,66	$\pm 0,03$	0,08
n-Hexanol	0,71	$\pm 0,02$	0,07
n-Heptanol	0,75	$\pm 0,02$	0,07
n-Octanol	0,77	$\pm 0,03$	0,09
Äthylhexanol	0,79	$\pm 0,03$	0,08
n-Nonanol	0,80	$\pm 0,03$	0,09
n-Decanol	0,81	$\pm 0,03$	0,09

Eine Verbesserung des Trenneffektes wurde durch die Mehrfachentwicklung mit dem Fließmittel Benzol : Hexan = 1 : 1 erreicht. Durch viermaliges Entwickeln konnten die Glieder der homologen Reihe von n-Methanol bis n-Octanol einschließlich getrennt werden. Nicht trennbar waren:

Butanol und Isobutanol, sowie

Äthylhexanol, Nonanol und Decanol. (s. Abb. 26 und 27 und Tab. 31)

Abb. 25

Trennung von DNBE

Kieselgel G

Benzol

Rhodamin B



1 2 3 4 4' 5 M 6 7 8 8' 9 10

Abb. 26

Trennung von DNBE

Kieselgel G

Benzol:Hexan = 1:1

1mal entwickelt

Berberinsulfat.

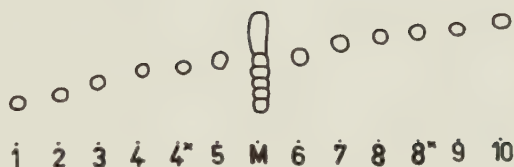


Abb. 27

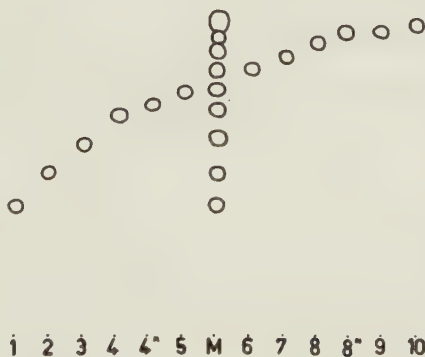
Trennung von DNBE

Kieselgel G

Benzol:Hexan = 1:1

4mal entwickelt

Berberinsulfat



Tab. 31

R_F-Werte von 3,5-Dinitrobenzoaten

DNBE	R _F 1				R _F 2		
	$\bar{u}$	a) F _D	f _d	$\bar{u}$	a) F _D	f _d	b)
1	0,10	± 0,00	0,01	0,17	± 0,01	0,04	0,19
2	0,12	± 0,00	0,01	0,22	± 0,01	0,02	0,23
3	0,15	± 0,01	0,03	0,27	± 0,01	0,03	0,28
4	0,17	± 0,01	0,02	0,31	± 0,03	0,08	0,31
4 ^x	0,17	± 0,01	0,02	0,33	± 0,02	0,05	0,31
5	0,19	± 0,01	0,02	0,37	± 0,03	0,09	0,35
6	0,21	± 0,01	0,02	0,39	± 0,03	0,08	0,38
7	0,24	± 0,01	0,02	0,42	± 0,02	0,07	0,42
8	0,27	± 0,01	0,04	0,46	± 0,03	0,09	0,47
8 ^x	0,28	± 0,02	0,05	0,47	± 0,03	0,08	0,48
9	0,28	± 0,02	0,04	0,48	± 0,03	0,08	0,48
10	0,30	± 0,02	0,05	0,51	± 0,03	0,09	0,51

a) analytisch ermittelt (Kieselgel G, Benzol:Hexan = 1 : 1,
1 - 4mal entwickelt)

b) rechnerisch ermittelt ($R_{Fn} = 1 - (1 - R_{F1})^n$)

Tab. 31 (Fortsetzung)

R_F-Werte von 3,5-Dinitrobenzoaten

DNBE	R _F 3				R _F 4			
	$\bar{u}$	a) F _D	f _d	b)	$\bar{u}$	a) F _D	f _d	b)
1	0,25	± 0,01	0,02	0,28	0,31	± 0,02	0,05	0,35
2	0,31	± 0,02	0,05	0,32	0,38	± 0,02	0,05	0,40
3	0,37	± 0,02	0,06	0,39	0,45	± 0,03	0,09	0,48
4	0,43	± 0,02	0,05	0,43	0,52	± 0,03	0,08	0,53
4 ^x	0,43	± 0,03	0,08	0,43	0,54	± 0,03	0,08	0,53
5	0,48	± 0,03	0,09	0,48	0,58	± 0,03	0,08	0,58
6	0,53	± 0,03	0,09	0,51	0,63	± 0,03	0,09	0,61
7	0,55	± 0,03	0,09	0,56	0,66	± 0,03	0,08	0,67
8	0,59	± 0,03	0,08	0,61	0,69	± 0,03	0,09	0,72
8 ^x	0,60	± 0,03	0,09	0,63	0,71	± 0,03	0,09	0,73
9	0,62	± 0,03	0,09	0,63	0,72	± 0,03	0,09	0,71
10	0,64	± 0,03	0,08	0,66	0,74	± 0,03	0,09	0,76

a) analytisch ermittelt (Kieselgel G, Benzol:Hexan = 1 : 1,
1 - 4mal entwickelt)

b) rechnerisch ermittelt ($R_{Fn} = 1 - (1 - R_{F1})^n$)

Der Trenneffekt war am besten, wenn jedes Chromatogramm viermal mit demselben Fließmittel entwickelt wurde. Wurde das Fließmittel für jede Entwicklung frisch bereitet, waren die Trennungen weniger scharf. Da Hexan flüchtiger ist als Benzol, ist anzunehmen, daß beim Chromatographieren der Hexangehalt des Fließmittels abnimmt, so daß man bei mehrmaligem Entwickeln praktisch jedesmal mit einem geringfügig polareren Fließmittel chromatographiert.

Zur verteilungschromatographischen Trennung der 3,5-Dinitrobenzoesäureester auf Schichten mit Kieselgur G als Träger erwiesen sich die Systeme

Polyäthylenglykol M 600 /	Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C) und
Phenoxyäthanol	/ " "

als geeignet.

Bei Anwendung des erstgenannten Systems wurden die 3,5-Dinitrobenzoesäureester nach einmaligem Entwickeln getrennt (Abb. 28), bei Anwendung von Phenoxyäthanol als stationäre Phase ergab die dreimalige Entwicklung den besten Trenneffekt (Abb. 29 und 30).

Im System Polyäthylenglykol M 600 / Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C) nicht trennbar waren die 3,5-Dinitrobenzoesäureester folgender Alkohole:

Butanol und Isobutanol
Octanol und Äthylhexanol
Nonanol und Decanol

Im System Phenoxyäthanol / Petroleumbenzin (Kp 100 - 140°C) nach dreimaligem Entwickeln nicht trennbar waren die 3,5-Dinitrobenzoesäureester von

Äthylhexanol und Nonanol.

Die Abb. 31 und 32 zeigen Chromatogramme der höheren Alkohole (ab Butanol), die schwieriger zu trennen sind und ein- bzw. dreimal chromatographiert wurden. Jeder Alkohol mit gerader Kohlenstoffkette wurde einmal allein und einmal mit dem benachbarten Alkohol der homologen Reihe zusammen aufgetragen. Die isomeren Alkohole wurden ebenfalls allein und mit den geradkettigen Alkoholen zusammen aufgetragen, von denen sie sich am schwierigsten trennen lassen (Isobutanol von n-Butanol und n-Pentanol,

Äthylhexanol von n-Octanol, n-Nonanol und n-Decanol).

Abb. 28

Trennung von DNBE

Kieselgur G

Polyäthylen-
glykol M 600 /
Petroleumbenzin
(Kp 100 - 140°C)

UV-Licht 254 nm



Abb. 29

Trennung von DNBE

Kieselgur G

Phenoxyäthanol /
Petroleumbenzin
(Kp 100 - 140°C)

1mal entwickelt

Rhodamin B

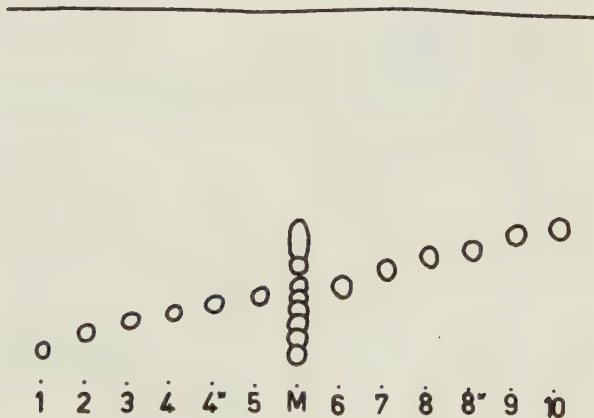


Abb. 30

Trennung von DNBE

Kieselgur G

Phenoxyäthanol /
Petroleumbenzin
(Kp 100 - 140°C)

3mal entwickelt

Rhodamin B



Chromatographie von schwer trennbaren 3,5-Dinitrobenzoaten

Abb. 31

Kieselgur G

Phenoxyäthanol /
Petroleumbenzin
(Kp 100 - 140°C)

1mal entwickelt

Rhodamin B

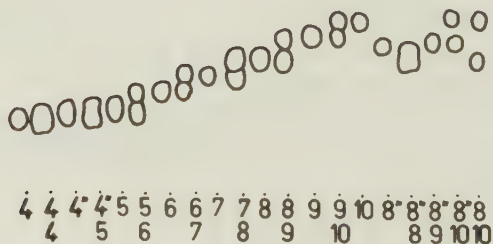


Abb. 32

Kieselgur G
Phenoxyäthanol /
Petroleumbenzin
(Kp 100 - 140°C)
3mal entwickelt
Rhodamin B



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
4 5 6 7 8 9 10 8 9 10

Aus Abb. 32 ist deutlich der Trenneffekt zu sehen. Der R_F -Wertunterschied zwischen Butanol und Isobutanol ist zwar gering, reicht aber zu einer Trennung aus. Er konnte durch vier- und fünfmaliges Entwickeln nicht mehr vergrößert werden.

Durch Kombination beider verteilungschromatographischer Methoden ist es möglich, sämtliche 12 Alkohole in Form ihrer 3,5-Dinitrobenzoesäureester voneinander zu trennen. Am besten geht man auch hier so vor, daß man die zu analysierende Substanz zunächst adsorptionschromatographisch mit Benzol oder Benzol-Hexan auf Kieselgel G-Schichten chromatographiert, unter Zuhilfenahme von Vergleichssubstanzen. Ergibt sich keine eindeutige Identifizierung, so unterwirft man die Substanz einer verteilungschromatographischen Trennung mit Hilfe eines der genannten Systeme.

Welches von beiden Systemen am günstigsten zur Anwendung kommt, läßt sich im allgemeinen schon an Hand des Adsorptionschromatogramms feststellen.

Für die Analytik der Weichmacher ergibt sich damit die Möglichkeit, auch solche Substanzen, die durch keine der getesteten dünn-schicht-

chromatographischen Methoden voneinander getrennt werden können (Tab. 23), nach Überführung in die entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoesäureester, mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie voneinander unterscheiden zu können.

Die mittleren R_F -Werte der 3,5-Dinitrobenzoesäureester nach Trennung in einem der beiden verteilungschromatographischen Systeme wurden aus je 9 Chromatogrammen errechnet und sind in den Tab. 32 und 33 zusammengestellt.

Tab. 32

R_F -Werte von 3,5-Dinitrobenzoaten

Verteilungssystem : Polyäthylenglykol/Petroleumbenzin
(Kp 100 - 140°C)

3,5-Dinitrobenzoat von	$\bar{u}$	F_D	f_d
Methanol	0,15	$\pm 0,01$	0,04
Äthanol	0,32	$\pm 0,02$	0,05
n-Propanol	0,44	$\pm 0,03$	0,07
n-Butanol	0,54	$\pm 0,03$	0,07
Isobutanol	0,56	$\pm 0,03$	0,07
n-Pentanol	0,62	$\pm 0,03$	0,09
n-Hexanol	0,71	$\pm 0,03$	0,08
n-Heptanol	0,77	$\pm 0,03$	0,08
n-Octanol	0,82	$\pm 0,03$	0,09
Äthylhexanol	0,83	$\pm 0,03$	0,09
n-Nonanol	0,86	$\pm 0,03$	0,09
n-Decanol	0,89	$\pm 0,03$	0,09

Tab. 33

R_F-Werte von 3,5-Dinitrobenzoaten

3,5-Dinitrobenzoat von	R _F 1			R _F 2				R _F 3			
	$\bar{u}$	a) F _D	f _d	$\bar{u}$	a) F _D	f _d	b)	$\bar{u}$	a) F _D	f _d	b)
Methanol	0,10	±0,00	0,01	0,18	±0,00	0,01	0,19	0,24	±0,01	0,02	0,26
Äthanol	0,14	±0,01	0,03	0,26	±0,01	0,02	0,26	0,35	±0,01	0,04	0,37
n-Propanol	0,17	±0,01	0,03	0,33	±0,02	0,05	0,31	0,43	±0,01	0,04	0,43
n-Butanol	0,20	±0,01	0,02	0,37	±0,01	0,04	0,36	0,50	±0,03	0,08	0,49
Isobutanol	0,21	±0,01	0,03	0,38	±0,03	0,09	0,38	0,52	±0,03	0,08	0,51
n-Pentanol	0,23	±0,01	0,03	0,41	±0,02	0,07	0,41	0,55	±0,02	0,07	0,55
n-Hexanol	0,27	±0,01	0,03	0,48	±0,02	0,07	0,47	0,60	±0,03	0,09	0,61
n-Heptanol	0,31	±0,01	0,03	0,53	±0,03	0,08	0,52	0,66	±0,03	0,09	0,66
n-Octanol	0,36	±0,02	0,05	0,58	±0,03	0,09	0,59	0,72	±0,03	0,08	0,74
Äthylhexanol	0,42	±0,02	0,06	0,63	±0,03	0,09	0,63	0,77	±0,03	0,09	0,77
n-Nonanol	0,46	±0,02	0,06	0,63	±0,02	0,07	0,66	0,77	±0,03	0,09	0,81
n-Decanol	0,39	±0,02	0,06	0,68	±0,03	0,08	0,71	0,80	±0,03	0,08	0,84

a) analytisch ermittelt (Verteilungssystem : Phenoxyäthanol /
Petroleumbenzin 100 - 140°C)

b) rechnerisch ermittelt ($R_{Fn} = 1 - (1 - R_{F1})^n$)

Nachweis von 3,5-Dinitrobenzoesäureestern:

Die Identifizierung der getrennten 3,5-Dinitrobenzoesäureester auf
Dünnschichtchromatogrammen bereitet sehr viel weniger Schwierigkeiten
als die Identifizierung von Weichmachern.

Sie lassen sich schon ohne Reagenszusatz sowohl auf nichtimprägnierten
als auch auf imprägnierten Dünnschichtplatten im kurzwelligen
UV-Licht als dunkelblaue bis violette Fluoreszenzflecken sichtbar
machen. Allerdings sind diese Flecken wenig kontrastreich, besonders

auf imprägnierten Platten, weshalb man besser fluorescierende Schichten (Leuchtstoff ZS Super, Berberinsulfat oder Rhodamin B) verwendet.

Micheel und Schminke (132) weisen 3,5-Dinitrobenzoesäureester durch Besprühen der Chromatogramme mit einer 1prozentigen Naphthylamin oder Benzidinlösung in Äthanol nach: Die Substanzen fluorescieren im UV-Licht sehr stark orange bis rötlich.

Gasparic und Borecký (130) reduzieren die Nitrogruppe mit Zn-II-chlorid und besprühen anschließend mit p-Dimethylaminobenzaldehyd. Mit Natriumhydroxid bilden 3,5-Dinitrobenzoesäureester einen blauen Farbstoff von vermutlich chinoider Struktur (87). Diese Reaktion ist auch zur quantitativen kolorimetrischen Bestimmung herangezogen worden. (87, 180)

Für 3,5-Dinitrobenzoesäureester, die auf mit Polyäthylenglykolen beschichteten Platten getrennt worden waren, wurde eine weitere Nachweismöglichkeit gefunden:

Wurden diese Platten 10 - 15 min mit UV-Licht von 254 nm bestrahlt, bildete sich an den Stellen, wo die Dinitrobenzoate saßen, ein roter Farbstoff. Beim Liegenlassen am Tageslicht verblaßte die rote Farbe nach etwa 6 Stunden; eine schwach gelbe Färbung blieb zurück, die wochenlang haltbar war. Durch erneutes Bestrahlen mit UV-Licht konnte der rote Farbstoff nicht wieder gebildet werden.

Die Intensität der Bildung des roten Farbstoffs ist abhängig von der Menge an 3,5-Dinitrobenzoesäureester.

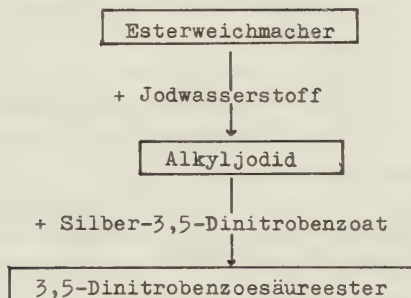
Die roten Farbflächen der Chromatogramme lassen sich photometrisch ausmessen. Auf diese Weise können dünn-schichtchromatographisch getrennte 3,5-Dinitrobenzoesäureester bestimmt werden, wie halbquantitative Vorversuche ergaben.

Mit allen beschriebenen Reagentien läßt sich nach eigenen Versuchen noch etwa 1 µg der 3,5-Dinitrobenzoesäureester nachweisen.

Versuche zur quantitativen Bestimmung von Weichmachern nach ihrer Überführung in die entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoesäureester:

Es wurde versucht, die Umsetzung der Esterweichmacher zu den entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoesäureestern zu einer quantitativen Bestimmungsmethode auszuarbeiten.

Die auf Seite 110 ff. beschriebene Umsetzung verläuft nach folgendem Schema:



Die entstandenen 3,5-Dinitrobenzoesäureester können dünnschicht-chromatographisch mit einer der beschriebenen Methoden getrennt und identifiziert und anschließend quantitativ bestimmt werden.

Die quantitative Bestimmung kann direkt am Chromatogramm durch photometrische Auswertung der angefärbten Substanzflecken erfolgen. Hierzu eignet sich die Farbbildung der 3,5-Dinitrobenzoate auf Polyäthylenglykolschichten im UV-Licht (254 nm).

Oder aber die 3,5-Dinitrobenzoesäureester werden aus den Chromatogrammen eluiert und nach Farbbildung mit Natriumhydroxid kolorimetrisch bestimmt. (180)

Die Versuche scheiterten daran, daß die Umsetzung der Weichmacher zu den entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoesäureestern nicht quantitativ gestaltet werden konnte. Während der erste Schritt der Reaktion, die Umsetzung des Esters mit Jodwasserstoffsäure, quantitativ verläuft und die entstehenden Alkyljodide vollständig aus dem Reaktionsgemisch abgetrennt werden können, liefert die Umsetzung der Alkyljodide mit Silber-3,5-Dinitrobenzoat keine reproduzierbaren Ergebnisse.

Die Dünnschichtchromatographie von Säuren

Zur Isolierung der Säuren aus Esterweichmachern werden diese verseift und die alkoholunlöslichen ausgefallenen Kaliumsalze abfiltriert. Diese Salze von Di-, Oxydi- und Oxytricarbonsäuren, sowie einigen Sulfosäuren werden in einer Mischung aus 3 Teilen Wasser und 1 Teil Äthanol gelöst und durch einen Kationenaustauscher geschickt. (17) Die abfließende Lösung kann direkt zur Chromatographie verwandt werden.

Säuren aus Esterweichmachern können nach Braun und Geenen (144) in Form der Ammoniumsalze auf Kieselgel G mit einem Fließmittel aus Äthanol, Wasser und Ammoniak chromatographiert werden.

Sehr gute Trennungen von homologen aliphatischen Dicarbonsäuren und einigen Phenolcarbonsäuren erhielten Knappe und Peteri (142) durch Verteilungschromatographie auf Kieselgur-G-Schichten, die mit Polyäthylenglykolen imprägniert worden waren, mit dem Fließmittel:

Diisopropyläther : Ameisensäure (98-100 %) : Wasser = 9 : 7 : 3.

Diese Methode wurde zur Trennung der folgenden Säuren verwandt.

Oxal-	säure (O)
Malon-	" (Ma)
Bernstein-	" (B)
Glutar-	" (G)
Adipin-	" (Ad)
Pimellin-	" (Pi)
Kork-	" (K)
Acelain-	" (Ac)
Sebacin-	" (S)
p-Oxybenzoe-	" (OB)
Thiodibutter-	" (Th)
Phthal-	" (Ph)
Phosphor-	" (Po)
Citronen-	" (C)

Ein Dünnschichtchromatogramm dieser Säuren nach der von Knappe angegebenen Methode mit Polyäthylenglykol M 1000 als stationärer Phase

(0,5 g Polyäthylenglykol auf 1,0 g Kieselgur) zeigt die Abb. 33.

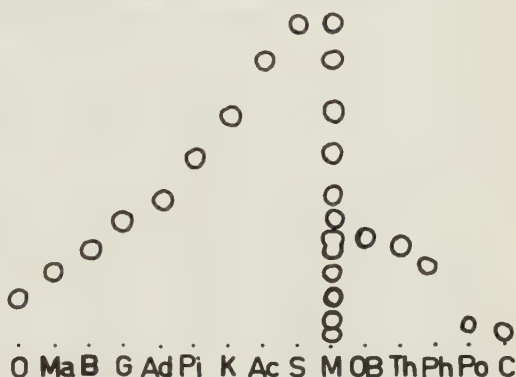
Abb. 33

Trennung von Säuren I

Kieselgur G

Polyäthylenglykol M 1000/
Diisopropyläther : Amei-
sensäure (98 - 100 %) :
Wasser = 9 : 7 : 3

Bromkresolpurpur



Nach Knappe und Peteri führt eine begrenzte Verringerung des Imprägnierungsgrades, sowie eine Erhöhung des Molekulargewichtes der verwendeten Polyäthylenglykole zu einer Erhöhung der R_F -Werte.

Zur besseren Trennung der Säuren mit niedrigen R_F -Werten wurde daher ein weiteres Chromatogramm mit Polyäthylenglykol M 4000 in einem Imprägnierungsverhältnis von 0,3 g Polyäthylenglykol M 4000 auf 1,0 g Kieselgur G angefertigt (181) (Abb. 34).

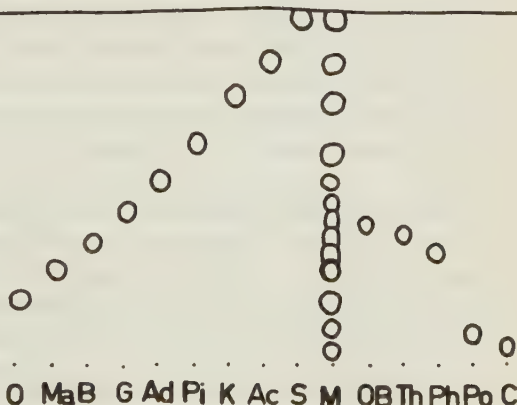
Abb. 34

Trennung von Säuren II

Kieselgur G

Polyäthylenglykol M 4000/
Diisopropyläther : Amei-
sensäure (98 - 100 %) :
Wasser = 9 : 7 : 3

Bromkresolpurpur



Nicht trennbar waren Phosphorsäure und Bernsteinsäure.

Tab. 34

R_F-Werte von Säuren

Säure	I.			II.		
	$\bar{u}$	F_D	f_d	$\bar{u}$	F_D	f_d
O	0,13	± 0,01	0,03	0,19	± 0,01	0,03
Ma	0,21	± 0,01	0,03	0,27	± 0,01	0,04
B	0,27	± 0,01	0,03	0,34	± 0,01	0,04
G	0,35	± 0,01	0,03	0,44	± 0,02	0,05
Ad	0,42	± 0,02	0,05	0,52	± 0,02	0,05
Pi	0,52	± 0,02	0,06	0,62	± 0,02	0,06
K	0,64	± 0,02	0,06	0,75	± 0,03	0,08
Ac	0,80	± 0,03	0,08	0,85	± 0,03	0,09
S	0,91	± 0,03	0,08	0,98	± 0,03	0,09
OB	0,31	± 0,01	0,04	0,39	± 0,02	0,05
Th	0,28	± 0,01	0,04	0,36	± 0,02	0,05
Ph	0,22	± 0,01	0,03	0,31	± 0,02	0,06
Po	0,06	± 0,01	0,02	0,09	± 0,01	0,02
C	0,04	± 0,01	0,02	0,05	± 0,01	0,02

I. Polyäthylenglykol M 1000/Diisopropyläther:Ameisensäure

(98 - 100 %) : Wasser = 9 : 7 : 3

II. Polyäthylenglykol M 4000/Diisopropyläther:Ameisensäure

(98 - 100 %) : Wasser = 9 : 7 : 3

Diskussion der beschriebenen Analysenverfahren in Hinblick auf ihre Verwendbarkeit zur Analytik von Weichmachern in der Praxis: Die

Analytik reiner Weichmacher bereitet im allgemeinen wenig Schwierigkeiten. Sie lassen sich schnell und sicher durch den Nachweis der Heteroelemente, durch die Bestimmung der Refraktion, durch die Aufnahme des Infrarotspektrums und mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie identifizieren. Zur Dünnschichtchromatographie können sowohl die chemisch unveränderten Weichmacher als auch die aus Esterweichmachern isolierbaren Säuren und Alkohole herangezogen werden.

In gleicher Weise können die aus Kunststoffen durch Ätherextraktion isolierten Weichmacher identifiziert werden. Begleitsubstanzen, die bei der Extraktion der Kunststoffe mit herausgelöst werden, sind im allgemeinen mengenmäßig in sehr viel geringerem Maße vorhanden als die Weichmacher selbst und stören deshalb häufig bei

der Bestimmung der Refraktion und bei der Aufnahme des IR-Spektrums nicht. Bei der Dünnschichtchromatographie werden sie von den Weichmachern getrennt. Häufig sind sie in so geringer Menge vorhanden, daß sie bei Verwendung von etwa 10% des Atherextraktes überhaupt nicht mehr auf dem Chromatogramm sichtbar werden.

Zur quantitativen Bestimmung der dünn-schichtchromatographisch getrennten Weichmacher eignet sich die Hydroxamsäurereaktion.

Weitaus komplizierter ist die Identifizierung von Weichmachern in Lebensmitteln, besonders in fetthaltigen Produkten. Einmal, weil Weichmacher häufig den Fettsäureglyceriden im chemischen Aufbau nahe verwandt sind, zum anderen, weil im allgemeinen geringe Weichmachermengen in einem großen Überschuß an Fett nachgewiesen werden sollen. Durch Extraktion des Lebensmittels mit Methylenchlorid werden sowohl die Weichmacher als auch die Fettsäureglyceride und verschiedenartige andere Begleitsubstanzen herausgelöst. Die direkte Dünnschichtchromatographie dieses Extraktes führt wegen seiner komplexen Zusammensetzung häufig nicht zu eindeutigen Ergebnissen. Die quantitative Bestimmung der Weichmacher in Fetten mit Hilfe der Hydroxamsäurereaktion ist im allgemeinen nicht möglich. Diese Bestimmung kann nur dann durchgeführt werden, wenn es gelingt, Weichmacher eindeutig von den Fettsäureglyceriden zu trennen; denn Fettsäureglyceride als Ester reagieren ebenfalls mit Hydroxylamin.

Setzt man dagegen das Fett-Weichmachergemisch mit Jodwasserstoffsäure um, erhält man außer den Alkyljodiden aus Weichmachern nur Isopropyljodid aus den Fettsäureglyceriden. Nach Abtrennung aus dem Reaktionsgemisch können die Alkyljodide gaschromatographisch oder nach Überführung in die entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoesäureester dünn-schichtchromatographisch getrennt werden. Der Gesamtgehalt an Alkylgruppen kann auch titrimetrisch ermittelt werden.

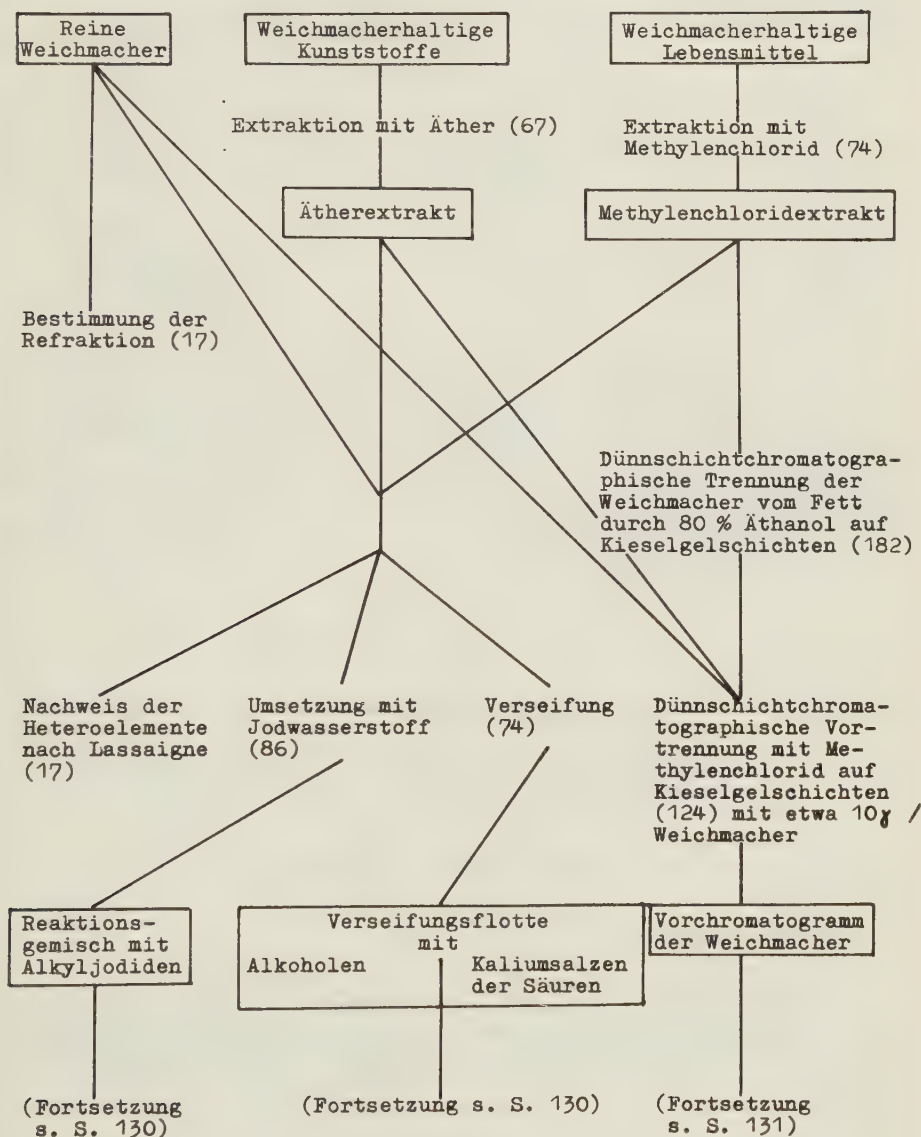
Eine andere Möglichkeit zur Identifizierung von Weichmachern in Fetten besteht darin, die Weichmacher-Fettmischung (d.h. den Methylenchloridextrakt) zu verseifen. Die erhaltenen Alkohole las-

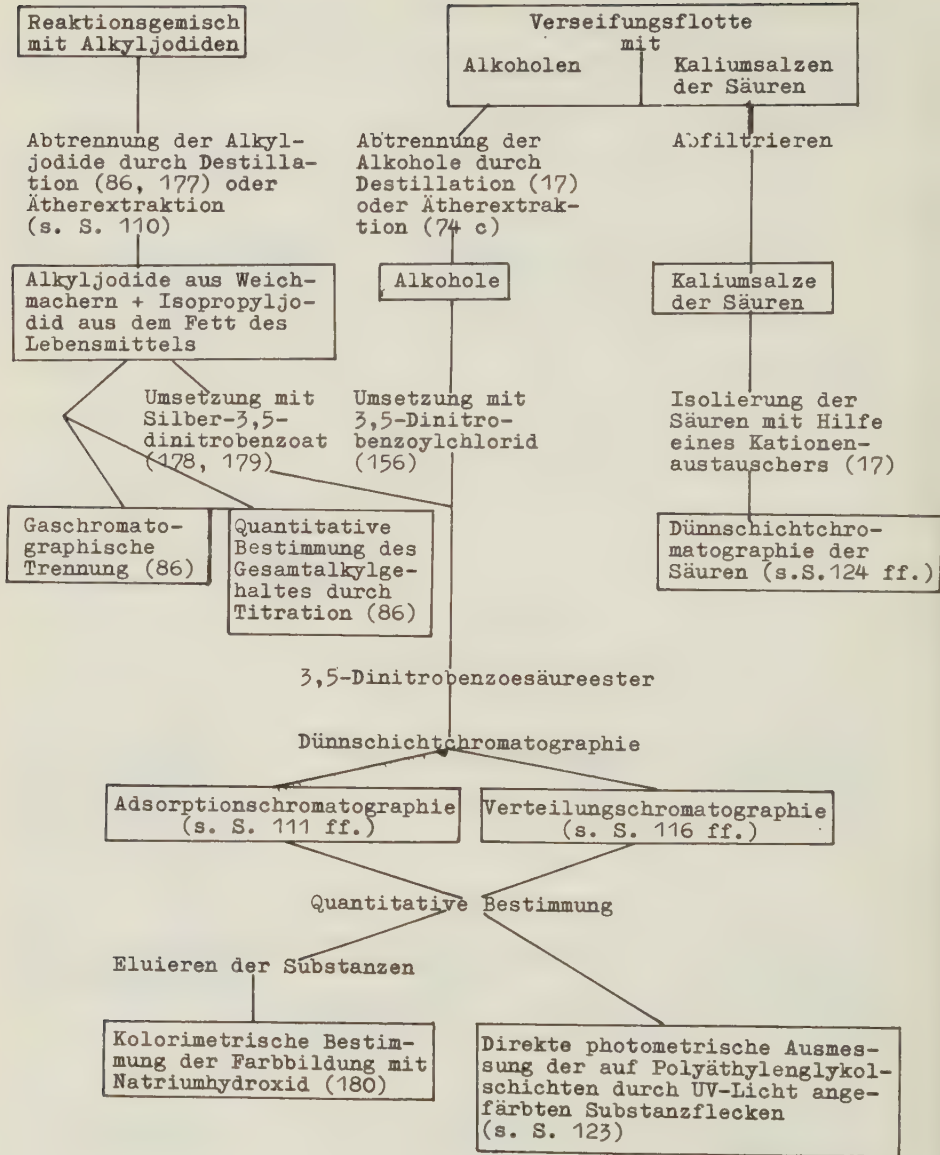
sen sich durch Ätherextraktion oder bei niederen Gliedern auch durch Destillation vom Glycerin der Fette trennen. Nach Umsetzung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid können die Alkohole quantitativ bestimmt werden, und zwar entweder direkt oder nach vorhergehender dünnschichtchromatographischer Trennung und Identifizierung.

Di-, Oxydi- und Oxytricarbonsäuren, sowie einige Sulfosäuren aus Esterweichmachern lassen sich in Form ihrer Kaliumsalze durch Filtration aus der Verseifungsflotte gewinnen. Sie können nach Freisetzung aus ihren Salzen ebenfalls dünnschichtchromatographisch identifiziert werden.

Nach unseren Erfahrungen erwies sich folgender Entwurf eines Analysenganges als günstig zur Analytik von Weichmachern.

Entwurf eines Analysenganges zur Identifizierung von Weichmachern





Vorchromatogramm der
Weichmacher

Dünnschichtchromatographie
mit Methylenchlorid auf
Kieselgelschichten (124)
mit mindestens 0,5 - 1,0 mg/
Weichmacher.

Eluieren der
Substanzen
(s.S. 98 und S. 102)

Identifizierung
durch IR-Spektren
(80)

Quantitative Bestimmung
mit Hilfe der Hydroxam-
säurereaktion (s.S.99 ff.)

Auswahl eines spezifischen
Systems zur Trennung der in
Frage kommenden Weichmacher
mit Hilfe von Tab. 23

Identifizierung
durch Dünnschicht-
chromatographie
unter Zuhilfenah-
me von Vergleichs-
substanzen
(s.S. 93 ff.)

A b k ü r z u n g e n

Appl.	=	Applikationsart
ip.	=	intraperitoneal
or.	=	oral
F&DA	=	Food and Drug Administration
E	=	Extinktion
ξ	=	molarer Extinktionskoeffizient
c	=	Konzentration (Mol / Liter)
s	=	Schichtdicke (cm)
DNBE	=	3,5-Dinitrobenzoesäureester
WM	=	Weichmacher
E_n	=	$u_n - \bar{u}$ (Abweichung der Einzelwerte)
f_d	=	$\frac{\sum E_n}{n}$ (durchschnittliche Abweichung der Einzelwerte u)
F_D	=	$\frac{f_d}{\bar{u}}$ (durchschnittliche Abweichung des Mittelwertes $\bar{u}$)
n	=	Anzahl der Werte u
u	=	Einzelwert
$\bar{u}$	=	$\frac{\sum u_n}{n}$ (Mittelwert)

III. ZUSAMMENFASSUNG

Die Ergebnisse lassen sich in folgenden Punkten zusammenfassen:

1. 18 Testweichmacher wurden mit Hilfe von 5 in der Literatur beschriebenen Fließmitteln auf Kieselgelschichten dünn-schicht-chromatographisch getrennt.

Folgende Weichmachergruppen besaßen in allen 5 Fließmitteln den gleichen R_F -Wert:

Glycerintriacetat, Dibutoxyäthylphthalat und Tributylcitrat
Thiodibuttersäureäthylhexylester, Dibutyl- und Diisobutylphthalat

Diäthylhexyl- und Dinonyladipat

Diäthylhexyl-, Dinonyl- und Didecylphthalat

Um auch solche "kritischen" Weichmacher voneinander trennen zu können und um den Trenneffekt bei Weichmachern zu verbessern, die in den angegebenen Fließmitteln nur sehr geringe R_F -Wertunterschiede aufweisen, wurde die Dünnschichtchromatographie mit Mehrfachentwicklung, die Ringdünnschichtchromatographie und die Dünnschicht-Verteilungschromatographie angewandt.

Mehrere Lösungsmittelsysteme mit polaren oder unpolaren organischen Lösungsmitteln als stationärer Phase und Petroleumbenzin bzw. polaren, Acetonitril enthaltenden Lösungsmitteln als mobiler Phase wurden auf ihre Verwendbarkeit zu verteilungschromatographischen Weichmachertrennungen auf Dünnschichtplatten mit Kieselgur G als Träger getestet.

In einer Übersichtstabelle wurde die Trennwirkung der verschiedenen getesteten Systeme auf die 18 Testweichmacher zusammengestellt.

Untrennbar blieben:

Butyl- und Isobutylphthalat

Äthylhexyl- und Nonyladipat

Äthylhexyl- und Nonylphthalat

(siehe aber Punkt 4)

Zur Trennung von Weichmachermischungen unbekannter Zusammensetzung erwies es sich als sehr günstig, zunächst ein Vorchromato-

gramm auf Kieselgelschichten mit Methylenchlorid als Fließmittel nach Braun herzustellen. Falls sich aus diesem Chromatogramm keine eindeutige Identifizierung der fraglichen Substanz ergab, wurde ein zweites Chromatogramm mit Hilfe eines aus einer Tabelle zu entnehmenden spezifischen Systems angefertigt.

2. Die Anwendbarkeit verschiedener Sprühreagentien zum Nachweis von dünn-schichtchromatographisch getrennten Weichmachern wurde getestet:

Auf rein anorganischen Kieselgel- und Kieselgurschichten konnte 1γ aller Weichmacher ohne Schwierigkeiten nachgewiesen werden.

Dünn-schicht-Verteilungschromatogramme mit Phenoxyäthanol und Undecan als stationärer Phase wurden vor Anwendung der Sprühreagentien 1 h auf 120° erhitzt, um die stationäre Phase vollständig zu verflüchtigen.

Zum Nachweis von Weichmachern auf permanent mit Siliconöl hydrophobierten Schichten wurden 2 Nachweismethoden gefunden.

3. Zur quantitativen Bestimmung der Esterweichmacher wurde die Hydroxamsäurereaktion nach dünn-schichtchromatographischer Trennung herangezogen.

Die molaren Extinktionskoeffizienten der einzelnen Ester wurden bestimmt. Da sie sich voneinander je nach Art der Säurekomponente unterscheiden, müssen für Ester mit verschiedenen Säurekomponenten die Eichkurven gesondert aufgestellt werden.

Nach den Untersuchungen eignet sich diese Reaktion gut zur apparativ einfachen, quantitativen Bestimmung der Weichmacher.

4. Zur Dünn-schichtchromatographie von Alkoholen aus Esterweichmachern wurden diese in die entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoesäure-ester übergeführt. Mehrere Methoden zur Darstellung dieser Derivate wurden erprobt. Es erwies sich als sehr günstig, die Ester zunächst mit Jodwasserstoff zu spalten und anschließend die entstandenen Alkyljodide mit Silber-3,5-dinitrobenzoat umzusetzen.

Eine Trennung der 3,5-Dinitrobenzoesäureester wurde durch Ad-

sorptions- und Verteilungschromatographie auf Dünnschichtplatten erreicht. Jeder der 12 untersuchten 3,5-Dinitrobenzoesäureester konnte durch mindestens eine der erarbeiteten Methoden von den übrigen Substanzen getrennt werden.

Somit lassen sich auch die drei nicht voneinander trennbaren Weichmacherpaare (nach Punkt 1) nach Überführung in die entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoesäureester gut voneinander trennen.

5. Es wurde eine empfindliche Farbreaktion zum Nachweis der 3,5-Dinitrobenzoesäureester gefunden, die sich nach Vorversuchen auch zur quantitativen Bestimmung eignen könnte.
6. Versuche, die Umsetzung von Esterweichmachern mit Jodwasserstoff und Silber-3,5-dinitrobenzoat zu einer quantitativen Bestimmung durch Bestimmung der entstandenen 3,5-Dinitrobenzoesäureester auszuarbeiten, scheiterten daran, daß die Umsetzung der Alkyljodide mit Silber-3,5-dinitrobenzoat nicht quantitativ gestaltet werden konnte.
7. Zur Trennung verschiedener Säuren aus Esterweichmachern eignen sich zwei von Knappe und Peteri beschriebene Methoden.
8. Es wurde ein Analysengang zur Identifizierung und quantitativen Bestimmung von Weichmachern entworfen.

IV. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. H. Hopff Chem. Ind., 4, 725 (1952)
2. R. Houwink, A.J. Stavermann Chemie und Technologie der Kunststoffe Leipzig (1963)
3. K.G. Bergner Dtsch. LM-Rundschau, 58, 101, 140 (1962)
4. H.J. Saechtling Werkstoffe aus Menschenhand, München (1961)
5. G.F. Kinney Eigenschaften und Anwendung von Kunststoffen, Stuttgart (1961)
6. E. Groß, A. Grosse Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmakol., 168, 473 (1932)
7. F. Bär Arzneimittelforschung, 11, 9 (1961)
8. Gesetz über den Verkehr mit Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen (Lebensmittelgesetz) in der Fassung der Bekanntmachung vom 17.1.1963 (RGBl. I S. 18), der Änderungsverordnung vom 14.8.1943 (RGBl. I S. 488) und des Gesetzes zur Änderung und Ergänzung des Lebensmittelgesetzes vom 21.12.1958 (BGBl. I S. 950)
9. R. Nitsche, K.A. Wolf Kunststoffe (Bd.2), Berlin, Göttingen, Heidelberg (1961)
10. L. Robinson-Görnhardt Kunststoffe, 47, 54 (1957)
11. L. Robinson-Görnhardt Kunststoffe, 52, 67 (1962)
12. A. Hill Plastics, 22, 103 (1957)
13. K. Thinius Chemie, Physik und Technologie der Weichmacher, Berlin (1960)
14. K. Thinius Plaste und Kautschuk, 1, 194 (1954)
15. a) Appraisal of the safety of chemicals in foods, drugs and cosmetics.
Ass. Food and Drug Officials of the US (1959)
b) Procedures for testing of international food additives to establish their safety for use.
Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1958)
c) Principles and procedures for evaluating the safety of food additives. Problems of evaluating of carcinogenic hazard from use of food additives.
Food Protection Committee, Food and Nutrition Board (1959)
16. D. Henschler Klin. Wschr., 36, 663 (1958)
17. H. Gnam, W. Sommer Die Lösungsmittel und Weichmachungsmittel, Stuttgart (1958)
18. H. Parnitzke Ärztl. Wschr., 1/2, 1102 (1947)
2, 684 (1948)
19. K. Knoll Münch. med. Wschr., 93, 2298 (1951)
20. H. Eller Dissert. Würzburg (1937)

21. H. Groetzel Arch. Toxikologie, 15, 159 (1959)
22. G. Walthard Schweiz, med. Wschr., 77, 599 (1947)
23. H. Parnitzke Psychiatrie, Neurol. med. Psychol., 4, 86, 91 (1952)
24. W. Rott Dtsch. Z. Nervenheilkunde, 167, 74 (1951)
25. W. Borgmann, G.A. Hunold Z. Hyg. Infektionskrankh., 133, 26 (1951)
26. E. Groß Dtsch. med. Wschr., 75, 311 (1950)
27. K. Hierholzer, H. Noetzel, L. Schmidt Arzneimittelforschung, 7, 585 (1957)
28. R. Lefaux Toxicologie des Matières Plastiques et des Macromoléculaires, Paris (1952)
29. F.S. Mallette, E. von Haam Arch. Ind. Health, 5, 311 (1952)
30. J.F. Treon, T.R. Dutra, F.P. Cleveland Arch. Ind. Health, 8, 170 (1953)
31. J.F. Treon, R.S. Capel, H. Sigmon Arch. Ind. Health, 8, 268 (1953)
32. L.K. Halpern, R.S. Weiss Arch. Ind. Health, 8, 284 (1953)
33. F.S. Malette, E. von Haam Arch. Ind. Health, 6, 231 (1952)
34. H.F. Smyth J. Ind. Hyg. Tox., 26, 269 (1944)
35. G. Draize J. Pharm. Exp. Ther., 93, 26 (1948)
36. A. Karel Fed. Proc., 6, 342 (1947)
37. G. Bornmann, A. Loeser, K. Mikulicz, K. Ritter ZUL, 103, 413 (1956)
38. C.C. Smith Arch. Ind. Health, 7, 310 (1953)
39. S. Homrowski, M. Nikonorow Jahrb. d. Polnischen Hygiene-Instituts (Rocznik : PZH) 10/4 (1959)
40. H.C. Hodge Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 53, 20 (1943)
41. C.B. Shaffer, C.P. Carpenter, H.F. Smyth J. Ind. Hyg. Toxicol., 27, 130 (1945)
42. C.P. Carpenter Arch. Ind. Health, 8, 219 (1953)
C.S. Weil, H.F. Smyth
43. D.K. Harris, H.C. Hodge, Arch. Ind. Health, 13, 259 (1956)
E.A. Maynard,
H.J. Blanchet
44. M. Finkelstein, Toxicol. appl. Pharmacol., 1, 283 (1959)
H. Gold
45. W.F. von Oettingen Arch. Ind. Health, 21, 24, 100 (1960)

46. N. N. Food, Drug, Cosmetic Law J. 840 (1958)
u. Federal Reg. 866 (1960)
47. A.J. Lehman Ass. Food Drug Off. US,
a) 15, 82 (1951)
b) 18, 129 (1954)
c) 20, 159 (1956)
d) 21, 113 (1957)
48. A.J. Lehman, Modern Packaging, 28, 115 (1955)
W.J. Patterson
49. The Geigy Company Limited P.C.D. Bulletin No. 18
50. H.C. Hodge, E.A. Maynard Arch. Ind. Health, 8, 289 (1953)
H.J. Blanchet,
R.E. Hyatt, V.K. Rowe,
H.C. Spencer
51. D.K. Harris Brit. J. Ind. Med., 10, 267 (1953)
52. B. Scheunemann Pharmazie, 12, 166 (1957)
53. K. von der Horst Mod. Plastics, 24, 154 (1947)
54. W. Massmann Berufsdermatosen, 3, 168 (1955)
55. B. Anz. Nr. 163 vom 27.8.1957
56. Empfehlungen der Kunststoff-Kommission des Bundesgesundheitsamtes
Teil A: Gesundheitliche Beurteilung von Kunststoffen im Rahmen
des Lebensmittelgesetzes
a) 1. Mitteilung Bundesgesundheitsbl., 1, 235 (1958)
b) 2. " " 2, 263 (1959)
c) 3. " " 3, 235 (1960)
d) 4. " " 3, 301 (1960)
e) 5. " " 3, 415 (1960)
f) 6. " " 4, 106 (1961)
g) 7. " " 4, 120 (1961)
h) 8. " " 4, 211 (1961)
i) 9. " " 4, 294 (1961)
k) 10. " " 4, 310 (1961)
l) 11. " " 5, 242 (1962)
m) 12. " " 5, 352 (1962)
n) 13. " " 5, 403 (1962)
o) 14. " " 6, 239 (1963)
p) 15. " " 6, 404 (1963)
q) 16. " " 6, 413 (1963)
Teil B: Untersuchung von Kunststoffen, soweit sie als Bedarfs-
gegenstände im Sinne des Lebensmittelgesetzes verwendet
werden.
r) 1. Mitteilung Bundesgesundheitsbl., 4, 189 (1961)
s) 2. " " 4, 294 (1961)
t) 3. " " 5, 223 (1962)
u) 4. " " 6, 350 (1963)
57. A.K. Doolittle The Technology of Solvents and Pla-
sticizers, New York (1954)

58. J. Fink ZUL, 107, 209 (1958)
59. H.E. Eich ZUL, 115, 46 (1961)
60. J.C. Kaskie Arch. Ind. Health, 8, 281 (1953)
61. K. Thinius, E. Schröder Nahrung, 2, 297 (1958)
62. K.G. Bergner Angew. Chem., 65, 165 (1953)
63. O.R. Klimmer, J.U. Nebel Arzneimittelforschung, 10, 44 (1960)
64. Erlaß des österreich. Bundesministeriums für soziale Verw. vom 27.8.1959 ZUL, 111, 20 (1960)
65. L. Truffert Dtsch. LM-Rundschau, 52, 260 (1956)
66. J. Officiel vom 20.7. (1950) ZUL, 93, 89 (1951)
" " " 25.7. (1950)
" " " 13.5. (1952)
" " " 20.1. (1954)
" " " 13.5. (1954)
" " " 16.4. (1955)
" " " 30.12. (1959)
67. K. Thinius, E. Schröder Kunststoffe, 47, 183 (1957)
68. I.K. Aiken, J. Williamson Ref. von Thinius (13) S. 201
69. G.C. Whitnack, E.St. Clair Gantz Analyt. Chem., 24, 1060 (1952)
70. J. Ryan, G.B. Watkins Ind. Engng. Chem. analyt. Edit., 5, 191 (1933)
71. E. Rouir, R. Dietz 16. Kongr. G.A.M.S., 175 (1953)
72. J. Haslam, W. Soppet Analyst, 75, 63 (1950)
73. J. Haslam, S. Grossmann, D.C.M. Squirell, S.F. Loveday Analyst, 78, 92 (1953)
74. Methoden für den Rundversuch innerhalb der Analysenkommission der Kunststoffkommission des Bundesgesundheitsamtes (1963)
a) unveröffentl. Methode der Farbenfabriken Bayer
b) " " " Farbwerke Hoechst
c) " " " BASF
75. Unveröffentlichte Analysenmethode der BASF
76. A. Rauscher, J. Americ. Chem. Soc., 70, 438 (1948)
A.D. Clarke
77. Unveröffentlichter Entwurf der Kunststoffkommission des BGA zur Untersuchung des Ätherextraktes auf Weichmacher (1961)
78. J. Haslam, W. Soppet, J. Appl. Chem., 1, 112 (1951)
H.A. Willis

79. K. Thinius Analytische Chemie der Plaste, Berlin (1952)
80. D. Hummel Kunststoff-, Lack- und Gummianalyse München (1958)
81. S.W. Parr J. Americ. Chem. Soc., 30, 764 (1903)
82. B. Wurzschnitt Chem. Ztg., 74, 356 (1950)
83. J.B. Dumas A. Ch., 2, 198 (1831)
84. J. Kjeldahl Z. analyt. Chem., 22, 366 (1883)
85. F. Vieböck, Ber. dtsh. chem. Ges., 63, 2818 (1930)
A. Schwappach Z. analyt. Chem., 91, 360 (1933)
86. R. Kretz Z. analyt. Chem., 176, 421 (1960)
87. F.E. Critchfield Organic Functional Group Analysis, Oxford, London, New York, Paris (1963)
88. M.L. Malaprade Bull. soc. chim., 4, 906 (1934)
89. C. Paal Ber. dtsh. chem. Ges., 38, 1938, 2414 (1905), 40, 1392, 2201 (1907)
90. H. Bohme, O. Winkler, Z. analyt. Chem., 142, 1 (1954)
G.R. Lappin, L.C. Clark
91. G.W. Ewing Physikalische Analysen- und Untersuchungsmethoden der Chemie. Wien, Heidelberg (1961)
92. K. Thinius, E. Möbius Chem. Technik, 7, 392 (1955)
93. R.B. Barnes, R.C. Gore, Infrared Spectroscopy, Industrial Applications and Bibliography, New York (1944)
94. U. Liddel, V.Z. Williams
95. D.N. Kendall, Appl. Spectroskop., 7, 179 (1953)
R.R. Hampton,
H. Hansdorf,
F. Pristerer
96. F. Pristerer Analyt. Chem., 25, 944 (1955)
97. H. Rath, Melliland Textilber., 42, 1030 (1961)
H.J. Brielmaier,
J. Rau, H. Freyer
98. M. Cachia, J. Appl. Chem., 8, 291 (1958)
D.W. Southwart,
W.H. Davison
99. H. Luther, H. Meyer, Z. analyt. Chem., 170, 155 (1959)
H. Loew
100. F.J. Welcher Standard Methods of Chemical Analysis
101. R.W. Stafford, Analyt. Chem., 21, 1454 (1949)
R.J. Francel, F.J. Shay
102. N.E.N. Hagethorn, Plastica, 2, 448 (1956)
I.P. van Kesteren
103. M. Staub Mitt. LM-Unters. Hyg., 49, 1 (1958)

104. W. Diemair, Dissert. (1962)
E.H. Goeckel
105. R.G. Hirt, Analyt. Chem., 27, 354 (1955)
R.H. Schmitt,
R.W. Stafford
106. M.H. Swann, M.L. Adams, Analyt. Chem., 27, 1426 (1953)
C.C. Esposito
107. C.D. Shreve, Analyt. Chem., 23, 441 (1951)
M.R. Heether
108. R.F. Goddu, Analyt. Chem., 27, 1251 (1955)
N.F. Le Blanc,
C.M. Wright
109. G. Norritz Analyt. Chem., 31, 2012 (1959)
110. H. Fishman-Goldenberg, Analyt. Chem., 31, 1735 (1959)
P.E. Spoerri
111. M.H. Swann Analyt. Chem., 29, 1353 (1957)
112. B.W. Wurzschnitt Z. analyt. Chem., 129, 233 (1949)
113. K. Braunsdorf ZUL, 98, 434 (1954)
114. A. Montag, H. Thiel Mitt. Fachgr. LM-Chem., 14, 85 (1960)
115. F. Nagy Act. Chim. Acad. Sci. Hung., 26, 481
(1961)
116. H.A. Elliot, Analyt. Chem., 19, 10 (1947)
A.R. Jones,
L.B. Lockhart
117. G.C. Whitnack, Analyt. Chem., 25, 553 (1953)
E.St. Clair Gantz
118. A.F. Williams, Talanta, 2, 79 (1959)
D. Kenyon ref.: Z. analyt. Chem., 173, 335 (1960)
119. G.C. Whitnack, Analyt. Chem., 27, 359 (1955)
E.St. Clair Gantz
120. H.H. Furmann, J. Amer. Chem. Soc., 64, 660 (1942)
C.E. Bricker
121. H. Stalculp, H. Fauth, Analyt. Chem., 29, 1483 (1957)
J.O. Watts,
R.W. Williams
122. W. Burns J. Appl. Chem., 5, 599 (1955)
123. J.W.C. Peereboom J. Chromatog., 4, 323 (1960)
124. D. Braun Kunststoffe, 52, 2 (1962)
125. A. Gude Kunststoffe, 52, 679 (1962)
127. L.D. Cook, G.C. Shaw, Analyt. Chem., 34, 1179 (1962)
D.H. Salomon
128. J. Gasparic, J. Borecký J. Chromatog., 4, 138 (1960)
129. J. Borecký, J. Gasparic Mikrochim. Acta, 96 (1961)
130. J. Gasparic, J. Borecký J. Chromatog., 5, 466 (1961)

131. E. Sundt, M. Winter Analyt. Chem., 29, 851 (1957)
132. F. Micheel, W. Schminke Angew. Chem., 2, 334 (1957)
133. R.G. Rice, G.J. Keller, Analyt. Chem., 23, 194 (1951)
J.G. Kirchner
134. J.H. Dhont, C.de Rooy Analyst, 86, 527 (1961)
135. D. Waldi Unveröff.Versuche, ref. von Stahl (149)
136. H.P. Kaufmann, Fette, Seifen, Anstrichm., 56, 154
W.H. Nitsch (1954)
137. H.P. Kaufmann, Fette, Seifen, Anstrichm., 57, 231
H.G. Kohlmeyer (1955)
138. K.G. Bergner, H. Sperlich ZUL, 97, 253 (1953)
139. K.G. Bergner, H. Sperlich ZUL, 100, 488 (1955)
140. D. Hromatka, W.A. Aue Mh. Chem., 92, 503 (1962)
141. A.D. Clarke, G. Bazill British Plat., 31, 16 (1958)
142. E. Knappe, D. Peteri Z.analyt. Chem., 188, 184, 352 (1962)
143. A. Seher Fette, Seifen, Anstrichm., 58, 401
(1956)
144. D. Braun, H. Geenen J. Chromat., 7, 56 (1962)
145. J.G. Kirchner, Ind. Engng. Chem. Anal. Edit.,
A.N. Prater, 18, 31 (1946)
A.J. Haagen-Smit
146. N.L. Drake, J.Bronitsky J. Americ. Chem. Soc., 52, 3715 (1930)
147. J. Franc Chem. Listy, 51, 2041 (1957)
Collect. czechoslov. chem. Commun.,
23, 655, (1958)
148. J. Nowakowska, J. Americ. Oil Chem. Soc., 34, 411
E.H. Melvin, R. Wiebe (1957)
149. E. Stahl Dünnschichtchromatographie
Berlin, Göttingen, Heidelberg (1962)
150. Fa. Desaga G.m.b.H., Heidelberg
151. H.C. Chakrathorthy, Anal. Chim. Acta, 15, 451 (1956)
D.P. Burma
152. A. Jeannes, C.S. Wise, Analyt. Chem., 23, 415 (1951)
R.J. Dimler
153. K. Randerath Dünnschichtchromatographie
Weinheim (1962)
154. R. le Strange, Analyt. Chem., 26, 953 (1954)
R.H. Müller
155. N.C. Ganguli Anal. Chim. Acta, 12, 335 (1955)
156. J.M. Hais, K. Macek Handbuch der Papierchromatographie
Jena (1958)
157. W. Trappe Biochem. Z., 305, 150 (1940)
306, 316 (1941)

158. Fa. Macherey, Nagel & Co., Düren (Rheinland)
159. E. Hecker Verteilungsverfahren im Laboratorium
Weinheim (1955)
160. R. Neher, A. Wettstein Helv. Chim. Acta, 35, 276 (1952)
161. W.S. Lynn, L.A. Steel, E. Staple Analyt. Chem., 28, 132 (1956)
162. G. Urbach J. Chromatog., 12, 196 (1963)
163. H.P. Kaufmann, Z. Makus Fette, Seifen, Anstrichm.,
62, 1014 (1960)
164. H.P. Kaufmann, Z. Makus, B. Das Fette, Seifen, Anstrichm.,
63, 807 (1961)
165. D.C. Malins, H.K. Mangold J. Americ. Oil Chem. Soc.,
37, 576 (1960)
166. M. Brenner, A. Niederwieser, G. Pataki, A.R. Fahmy Experienta, 18, 101 (1962)
167. F. Feigl Spot Tests in Organic Analysis,
Amsterdam (1960)
168. H. Ertel, L. Horner J. Chromatog., 7, 268 (1962)
169. R.P.A. Sims, I.A.G. Larose J. Americ. Oil Chem. Soc.,
39, 232 (1962)
170. H. Brockmann Angew. Chem., 63, 133 (1951)
171. M.E. Tate, C.T. Bishop Canad. J. Chem., 40, 1043 (1962)
ref.: (153)
172. Anfärbereagentien für Dünnschicht- und Papierchromatographie,
E. Merck AG, Darmstadt (1961)
173. G.C. Barrett Nature, 194, 1171 (1962)
174. H. Bauer, H. Moll Die organische Analyse, Leipzig (1960)
175. S. Veibel Analytik organischer Verbindungen
Berlin (1960)
176. W.B. Renfrow, A. Chancey J. Americ. Chem. Soc., 68, 150 (1946)
177. S. Zeisel, R. Fanto Z. Landw. Versuchswes. Österreich,
5, 729 (1902)
178. M. Furter Helv. Chim. Acta, 21, 872 (1938)
179. M. Vecera, J. Gasparic Chem. Listy, 51, 1554 (1957)
ref.: Z.analyt. Chem., 161, 285 (1958)
180. G.E. Zaikov J. Analyt. Chem. of the USSR,
15, 111 (1960)
181. E. Knappe, D. Peteri Z. analyt. Chem., 190, 380 (1962)
182. K. Pfeilsticker persönliche Mitteilung

L e b e n s l a u f

Am 23. Dezember 1934 wurde ich, Irmgard Hölscher, in Bremen als Tochter des Kaufmanns Theodor Hölscher und seiner Ehefrau Klara, geb. Leuschner, geboren.

In Bremen besuchte ich die Volksschule und 8 Jahre die Oberschule für Mädchen "An der Kleinen Helle". Hier bestand ich am 12. Februar 1954 die Reifeprüfung.

Nach einer zweijährigen Praktikantenzeit in der "Hirsch-Apotheke" in Leer/Ostfriesland legte ich am 20. März 1956 in Aurich/Ostfriesland die pharmazeutische Vorprüfung ab.

Anschließend studierte ich 6 Semester Pharmazie in Marburg/Lahn und beendete das Studium mit dem pharmazeutischen Staatsexamen am 29. April 1959.

Die für die Erlangung der Bestallung als Apotheker notwendige praktische Tätigkeit absolvierte ich in einer Bremer Apotheke.

Vom Sommersemester 1960 bis Sommersemester 1961 studierte ich Lebensmittelchemie in Frankfurt/Main und war als Praktikantin am Städtischen Lebensmitteluntersuchungsamt in Frankfurt tätig. Am 5. Juni 1961 bestand ich die lebensmittelchemische Hauptprüfung.

Anschließend begann ich auf Anregung und unter der Anleitung von Herrn Professor Dr. Dr. W. Diemair mit der Dissertationsarbeit.

